

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

J. ANDRÉ THOMAS

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES TRANSFORMATIONS
LA MULTIPLICATION ET LA SPÉCIFICITÉ DES CELLULES HORS
DE L'ORGANISME. La cellule vitelline. Les cellules du type
fibrocyte et du type histiocyte.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le devant la Commission d'examen.

- 6 JUIL. 1938

M. CHARLES PÉREZ.. *Président.*

MM. ROBERT LÉVY.... }
MARCEL PRENANT. } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1938

SÉRIE A, N° 1824.
N° D'ORDRE : 2687.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

J. ANDRÉ THOMAS

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LES TRANSFORMATIONS,
LA MULTIPLICATION ET LA SPÉCIFICITÉ DES CELLULES HORS
DE L'ORGANISME. La cellule vitelline. Les cellules du type
fibrocyte et du type histiocyte.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le devant la Commission d'examen.

M. CHARLES PÉREZ.. *Président.*
MM. ROBERT LÉVY.... } *Examineurs.*
MARCEL PRENANT. }

PARIS

MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 120

1938

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

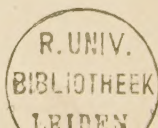
Doyen honoraire M. MOLLIARD.
Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

<i>Professeurs honoraires</i>	H. LEBESGUE	BLAISE.	G. BERTRAND.
	A. FERNBACH.	DANGEARD.	ABRAHAM.
	Émile PICARD.	LESPIEAU.	Ch. FABRY.
	LÉON BRILLOUIN.	MARCHIS.	LÉON BERTRAND.
	GUILLET.	VESSIOT.	WINTREBERT.
	PÉCHARD.	PORTIER.	DUBOSCQ.
	FREUNDLER.	MOLLIARD.	BOHN.
	AUGER.	LAPICQUE.	

PROFESSEURS

M. CAULLERY. T	Zoologie (Évolution des êtres organisés).	FOCH.	Mécanique expérimentale des fluides.
G. URBAIN. T	Chimie générale.	PAUTHENIER.	Physique (P. C. B.).
Émile BOREL. T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	DE BROGLIE. T	Théories physiques.
Jean PERRIN. T	Chimie physique.	CHRÉTIEN.	Optique appliquée.
E. CARTAN. T	Géométrie supérieure.	P. JOB.	Chimie générale.
A. COTTON. T	Recherches physiques.	LABROUSTE.	Physique du Globe.
J. DRACH. T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	PRENANT. T	Anatomie et Histologie comparées.
Charles PÉREZ. T	Zoologie.	VILLEY.	Mécanique physique et expérimentale.
E. RABAUD. T	Biologie expérimentale.	COMBES. T	Physiologie végétale.
M. GUICHARD.	Chimie minérale.	GARNIER. T	Mathématiques générales.
Paul MONTEL. T	Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	PÈRES.	Mécanique théorique des fluides.
L. BLARINGHEM. T	Botanique.	HACKSPILL.	Chimie (P. C. B.).
G. JULIA. T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	LAUGIER. T	Physiologie générale.
C. MAUGUIN. T	Minéralogie.	TOUSSAINT.	Technique Aéronautique.
A. MICHEL-LÉVY.	Pétrographie.	M. CURIE.	Physique (P. C. B.).
H. BÉNARD. T	Mécanique expérimentale des fluides.	G. RIBAUD. T	Hautes températures.
A. DENJOY. T	Application de l'analyse à la Géométrie.	CHAZY. T	Mécanique rationnelle.
L. LUTAUD. T	Géographie physique et géologie dynamique.	GAULT.	Chimie (P. C. B.).
Eugène BLOCH. T	Physique.	CROZE.	Recherches, physiques.
G. BRUHAT.	Physique théorique et physique céleste.	DUPONT. T	Théories chimiques.
E. DARMOIS. T	Enseignement de Physique.	LANQUINE. T	Géologie structurale et Géologie appliquée.
A. DEBIERNE. T	Physique Générale et Radioactivité.	VALIRON.	Mathématiques générales.
A. DUFOUR. T	Physique (P. C. B.).	BARRABÉ.	Géologie structurale et géologie appliquée.
L. DUROYER.	Optique appliquée.	MILLOT.	Biologie animale (P. C. B.).
A. GUILLIERMOND. T	Botanique.	F. PERRIN.	Théories physiques.
M. JAVILLIER. T	Chimie biologique.	VAVON.	Chimie organique.
L. JOLEAUD.	Paléontologie.	G. DARMOIS.	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique.
ROBERT-LÉVY. T	Physiologie comparée.	CHATTON. T	Biologie maritime.
F. PICARD.	Zoologie (Évolution des êtres organisés).	AUBEL.	Chimie biologique.
Henri VILLAT. T	Mécanique des fluides et applications.	Jacques BOURCART.	Géographie physique et Géologie dynamique.
Ch. JACOB. T	Géologie.	M ^{me} JOLIOT-CURIE.	Physique générale et Radioactivité.
P. PASCAL. T	Chimie minérale.	PLANTEFOL.	Biologie végétale (P. C. B.).
M. FRÉCHET. T	Calcul différentiel et Calcul intégral.	CABANNES.	Enseignement de Physique.
E. ESCLANGON. T	Astronomie.	GRASSÉ.	Biologie animale (P. C. B.).
M ^{me} RAMART-LUCAS. T	Chimie organique.	PRÉVOST.	Chimie (P. C. B.).
H. BÉGHIN. T	Mécanique physique et expérimentale.		

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire TOMBECK.



A la mémoire de mon Père.

A M. le professeur CHARLES PÉREZ,
Membre de l'Académie des Sciences,

qui voulut bien accepter la présidence de cette thèse
et m'encouragea toujours dans mes recherches.

En hommage de respectueuse gratitude.

A M. le professeur MARCEL PRENANT,

par qui je fus initié à la biologie marine, à Roscoff, dès 1924
En témoignage de reconnaissance et de sincère attachement.

A M. le professeur ROBERT LÉVY,

que je remercie vivement de sa bienveillance à mon égard.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551431_0001

RECHERCHES SUR LES TRANSFORMATIONS LA MULTIPLICATION ET LA SPÉCIFICITÉ DES CELLULES HORS DE L'ORGANISME

La cellule vitelline Les cellules du type fibrocyte et du type histiocyte

Par **J. ANDRÉ THOMAS** (D. M., D. Sc.)

Maître de Conférences à l'École des Hautes-Études,
Chef du Laboratoire
de Cytologie expérimentale à l'Institut du radium de l'Université de Paris,
Lauréat de l'Académie des Sciences.

TABLE DES MATIERES

Introduction générale et plan.....	215
Matériel et techniques.....	222

PREMIÈRE PARTIE

LA CULTURE DE L'ENTOBLASTE VITELLIN CHEZ L'EMBRYON DE LA POULE

INTRODUCTION	229
--------------------	-----

Première section : Les cultures épithéliales.

CHAPITRE PREMIER. — La culture de la paroi de la vésicule ombilicale..	231
--	-----

1. Essais de culture de l'aire vasculaire.....	231
2. La culture de l'aire avasculaire.....	234

<i>Les cellules de l'ectoblaste.....</i>	236
--	-----

NOTE : <i>Essais de culture de l'ectoblaste extra-embryonnaire.....</i>	237
---	-----

CHAPITRE II. — La culture pure de l'entoblaste vitellin	239
1. Les cultures en goutte pendante.....	239
<i>Les cultures en milieu liquide.....</i>	240
2. Les cultures en flacon.....	241
3. Description microscopique générale des colonies.....	242
4. Étude expérimentale de la croissance.....	243
A. La croissance réelle moyenne, p. 244. — B. La croissance maxima, p. 246. — C. La croissance réelle de l'entoblaste vitellin associé à l'ectoblaste, p. 248. — D. Les caractéristiques de la croissance, p. 250.	
5. Le pH du liquide de culture.....	251
CHAPITRE III. — Étude du cytoplasme de la cellule vitelline.....	255
1. Les constituants figurés du cytoplasme.	
A. Les vacuoles, p. 256. — B. Le chondriome, p. 257. — C. La zone de GOLGI, p. 257.	
2. Les lames hyaloplasmiques	258
3. Les propriétés physiologiques générales.....	259
4. Les enclaves de vitellus. Leur digestion.....	263
A. Aspect général dans la cellule vivante, p. 263. — B. Étude microscopique, p. 263. — C. Étude histochimique, p. 263. — D. Discussion sur la digestion intracellulaire des enclaves de vitellus, p. 286.	
CHAPITRE IV. — La multiplication des cellules vitellines.....	299
1. La structure générale des noyaux	300
2. La multiplication mitotique.....	302
3. La multiplication amitotique	304
A. La bipartition des noyaux, p. 304. — B. La formation et l'évolution des petits noyaux, p. 305. — C. La plasmodiérèse, p. 313.	
4. Résumé du mode de multiplication et interprétation.....	315
CHAPITRE V. — Les propriétés élaboratrices de la cellule vitelline.....	318
1. La libération du vitellus.....	318
2. La clasmatose vitelline.....	320
3. Étude cytologique	321
4. L'édification d'un système de fibres et de faisceaux.....	323
A. L'architectonie, p. 323. — B. Étude microscopique, p. 324. — C. Discussion sur le système de fibres et de faisceaux et interprétation, p. 328.	
CHAPITRE VI. — L'évolution de la structure épithéliale.....	341
1. L'évolution spontanée	341
2. Les variations provoquées. La dégénérescence des cellules.....	342

CHAPITRE VII. — La transformation de la cellule vitelline en cellule du type fibrocyte	344
1. Les cultures en goutte pendante	344
2. Les cultures en flacon	346
3. Les transformations cytologiques	348

Deuxième section : Les cultures de cellules du type fibrocyte issues de l'entoblaste vitellin.

CHAPITRE PREMIER. — La structure des colonies et des cellules	352
CHAPITRE II. — Les propriétés physiologiques	355
CHAPITRE III. — Étude expérimentale de la croissance	357
1. La croissance réelle moyenne	357
2. Les caractéristiques de la croissance	361
CHAPITRE IV. — Les propriétés élaboratrices des cellules vitellines du type fibrocyte	363
1. L'édification de fibres et de faisceaux	363
2. La sécrétion d'un produit figuré comparable au vitellus	365
A. L'observation des cellules vivantes, p. 365. — B. Étude cytologique, p. 367. — C. Compléments histochimiques, p. 371.	

Discussion de la première partie.

- A. Sur les propriétés histophysiologiques générales de l'épithélium vitellin cultivé et leur transformation, p. 373. — B. Sur l'évolution des constituants figurés du cytoplasme au cours de la digestion des enclaves, de la transformation des cellules et de la sécrétion, p. 382. — C. Sur la sécrétion et les fonctions de l'entoblaste vitellin. Interprétation, p. 395.

CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE.....	412
--	-----

DEUXIÈME PARTIE

LA TRANSFORMATION DE LA CELLULE VITELLINE
ÉPITHÉLIALE EN CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE

INTRODUCTION	417
CHAPITRE PREMIER. — La formation de cellules du type histiocyte dans les cultures épithéliales pures d'entoblaste vitellin.....	419
1. Les modes d'apparition des cellules du type histiocyte.....	419
2. La formation de cellules du type histiocyte par la cellule vitelline.....	420

- A. L'état vivant, p. 420. — B. Les préparations colorées, p. 430.
— C. Résumé du mode de formation et interprétation, p. 432.

CHAPITRE II. — L'évolution des cultures de cellules vitellines se transformant en cellules du type histiocyte.....	435
1. Les cellules vitellines	435
2. Les cellules du type histiocyte	435
A. Les îlots isogéniques, p. 436. — B. Les agglutinats, p. 436.	
3. Les cas de transformation concomitante en cellules des types fibrocyte et histiocyte.....	437
CHAPITRE III. — Les cultures de cellules du type histiocyte, issues des cellules vitellines	438
1. Description des colonies.....	439
2. Étude cytologique	440
A. L'état vivant, p. 440. — B. La structure cytologique, p. 441.	
3. Les propriétés physiologiques	443
CHAPITRE IV. — La cellule vitelline transformée en cellule du type histiocyte conserve sa spécificité de sécrétion.....	447
CHAPITRE V. — Le passage expérimental réversible des cellules vitellines du type histiocyte à l'état de syncytium réticulaire.....	451
<i>Discussion de la deuxième partie.....</i>	453
CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE.....	455

TROISIÈME PARTIE

LA TRANSFORMATION DES FIBROCYTES ISSUS DU CŒUR EN CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE

INTRODUCTION	457
CHAPITRE PREMIER. — Les deux modes de transformation des fibrocytes en cellules du type histiocyte	463
1. La transformation d'un fibrocyte en une cellule du type histiocyte.....	463
<i>Les membranes épithélioïdes.....</i>	465
2. La formation d'une série de cellules du type histiocyte par un fibrocyte.....	466
3. Résumé préliminaire des modes de formation et interprétation..	470

CHAPITRE II. — Les particularités du phénomène de la transformation des fibrocytes en cellules du type histiocyte.....	473
1. L'évolution des cultures en transformation.....	473
<i>Les îlots isogéniques et les agglutinats</i>	474
2. Les plasmods et l'individualisation des cellules du type histiocyte.....	475
3. La régénération des cultures en transformation.....	480
CHAPITRE III. — Les phénomènes cytologiques et physiologiques au cours de la transformation des fibrocytes en cellules du type histiocyte	483
1. La formation des cellules du type histiocyte. Les phénomènes nucléaires.....	483
2. Le cytoplasme et l'apparition des propriétés physiologiques.....	488
CHAPITRE IV. — Les cellules du type histiocyte issues des fibrocytes....	491
1. L'état vivant	491
2. La structure cytologique.....	492
3. Les propriétés physiologiques	493
<i>Discussion de la troisième partie</i>	495
CONCLUSIONS DE LA TROISIÈME PARTIE.....	497

QUATRIÈME PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MULTIPLICATION, DE LA TRANSFORMATION ET DE LA SPÉCIFICITÉ DES CELLULES

CHAPITRE PREMIER. — Les modes de multiplication cellulaire et la persistance de la spécificité	500
1. Rappel des modes de multiplication observés.....	500
2. La méroamitose.....	501
A. Méroamitose multiplicatrice, p. 501. — B. Méroamitose transformatrice, p. 501.	
3. Discussion.....	503
A. Sur la multiplication directe, p. 503. — B. Sur l'inhibition de la mitose, p. 515. — C. Sur la persistance de la spécificité dans ses rapports avec le mode de multiplication, p. 519.	
CHAPITRE II. — Aspect physiologique de la transformation en cellules du type histiocyte.....	522
1. Comparaison des phénomènes observés chez les cellules vitellines et chez les fibrocytes.....	522
2. Discussion.....	524
A. Aspect histophysiologique, p. 524. — B. Aspect physico-chimique, p. 532.	

CHAPITRE III. — Résumé d'essais biochimiques sur la transformation expérimentale en cellules du type histiocyte.....	536
--	-----

Discussion générale.

1. Sur l'état cellulaire, p. 539. — 2. Sur le passage à l'état histiocyttaire, p. 542. — 3. Variation et spécificité, p. 546.

CONCLUSIONS DE LA QUATRIÈME PARTIE.....	550
---	-----

Index bibliographique.....	553
----------------------------	-----

INTRODUCTION GÉNÉRALE ET PLAN

La transformation d'une cellule en une autre, de structure et de fonctions différentes, est un phénomène d'intérêt à la fois particulier et général ; il pose toute une série de problèmes. Les recherches sur ce sujet sont difficiles, susceptibles de conduire à des notions heurtant parfois les idées en cours.

Comment établir un tel fait d'une façon indiscutable ? La seule méthode sûre, qui satisfasse l'esprit, est l'observation directe prolongée du matériel vivant, évoluant spontanément dans des conditions physiologiques, puis soumis à l'expérimentation. Les résultats obtenus permettent d'interpréter avec certitude les stades qui sont analysés à loisir dans les préparations fixées et colorées. Cette procédure est suivie depuis longtemps en histophysiologie, mais son champ d'action est encore limité, bien qu'on s'efforce de l'étendre à l'aide des instruments modernes. Il importe, en effet, d'étudier le développement corrélatif de la structure et des fonctions de la matière vivante pendant une période très prolongée. La technique de la culture des tissus répond à ce besoin.

Elle a suscité un grand enthousiasme, puis, par réaction, comme il arrive toujours, une certaine méfiance, au moins parmi les biologistes qui ne sont ou ne veulent pas être à même d'en contrôler matériellement les résultats, et n'en distinguent pas avec assez de clarté les moyens et les buts. En réalité, si cette méthode importante de la cytologie expérimentale analyse des créations de laboratoire, il n'en est pas moins vrai que les modifications provoquées par les nouvelles conditions de vie sont, en général, séparables des résultats de l'évolution tissulaire normale. On peut considérer, par surcroît, comme l'idée en a déjà été exprimée, que les réactions possibles, *in vitro*, dans un milieu artificiel encore bien imparfait, se

produisent aussi, ou même sont la règle au sein de l'organisme. Des biologistes de grande valeur s'avèrent, dans différents pays, des fervents de cette discipline. Il suffit de ne pas oublier qu'elle doit représenter seulement un mode de travail précis sur des tissus isolés à l'état pur, permettant d'une façon simultanée l'évaluation qualitative et la mesure en fonction du temps, dont les résultats n'acquièrent leur plein sens que par comparaison avec ceux fournis par toutes les autres techniques d'analyse du protoplasme : histologie classique, physiologie, physico-chimie. Dans un exposé d'une haute portée scientifique et philosophique, T. PETERFI (1937) écrit : « ... Les progrès de l'histologie ne doivent pas être cherchés dans une dissolution dans la physique ou la chimie, mais dans un élargissement et un approfondissement de l'analyse causale à l'aide des méthodes physiques et chimiques, *dans les limites de la cytologie.* »

Les transformations normales de plusieurs catégories de cellules du sang et du tissu conjonctif sont fréquemment analysées en culture ; elles provoquent un nombre considérable de travaux. Celles des éléments épithéliaux constituent un domaine à peine exploré. Il convient de distinguer, en effet, les variations structurales contingentes et réversibles, des changements durables du type histologique, atteignant plusieurs fonctions. La matière vivante *in vitro* est extraordinairement plastique et adaptable ; elle se simplifie, perd les attributs qui lui confèrent d'habitude une partie de ses caractéristiques ; mais elle peut aussi les récupérer, dans une certaine mesure, lorsque les circonstances le lui permettent. Les cellules épithéliales n'échappent pas à cette règle. C. CHAMPY, dès 1912, voit que certaines d'entre elles prennent un aspect analogue à celles du tissu conjonctif. E. UHLENHUTH (1915) prouve que la consistance du milieu de culture suffit à les modifier. Elles deviennent fusiformes, pourvues de prolongements, constituent des réseaux, sont isolées, amiboïdes, elles phagocytent, d'après M. R. et W. H. LEWIS (1912), G. LEVI (1919-1925), CARLETON (1925), BARTA (1926) et une longue série d'auteurs. De même, les éléments du mésothélium des séreuses, bien étudiés par MAXIMOW (1927), et qui

ont des caractères épithéliaux (ou sont tout au moins spécifiquement différenciés : HARTZ, 1931 ; SCHOPPER, 1930), prennent le type fibrocyte. Inversement, les cellules conjonctives adoptent une structure plus ou moins nettement épithélioïde (W. LEWIS, M. LEWIS, R. ERDMANN, M. VON MÖLLENDORFF, GROSSFELD, GRÜNBERG). Cependant, l'observation suffisamment prolongée de quelques épithéliums en culture pure montre que, si chez certains les éléments s'allongent (thyroïde), ils gardent, chez d'autres (foie, iris) une structure dite épithéliotypique, affectant notamment une disposition en mosaïque à la surface du plasma coagulé.

L'entoblaste vitellin de la Poule, tissu syncytial chargé de grosses enclaves de vitellus, constituant le revêtement interne de la paroi de la vésicule ombilicale, s'est révélé un objet de choix pour une étude des transformations vraies d'un épithélium embryonnaire différencié. Une technique qui en assurât l'isolement et la prolifération, *in vitro*, a été recherchée en 1932, puis mise au point. L'obtention de cultures pures durables (1933) a permis d'effectuer une série d'observations et d'expériences nouvelles. D'autres investigations ont porté, par comparaison, sur les fibrocytes issus du cœur. Des instruments nouveaux ont été conçus ; des vérifications faites par l'enregistrement cinématographique.

Les cellules vitellines épithéliales, tout en digérant leurs enclaves deutoplasmiques, modifient progressivement leur structure jusqu'à prendre, ainsi que leurs colonies, le type fibrocyte ; mais cette variation est irréversible et touche aux propriétés générales. Elles ont, d'autre part, bien que d'origine entoblastique, la possibilité de donner directement naissance, par un mécanisme ignoré jusque-là, à des éléments libres acquérant les caractéristiques de forme et de fonction des histiocytes (y compris le pouvoir permanent de synthèse à partir des protéines du sérum). Les cellules transformées conservent leur capacité de multiplication : on réussit à les cultiver à l'état pur. On peut démontrer, bien qu'elles appartiennent d'une manière définitive à d'autres catégories histologiques (l'historique fera apparaître que ces phénomènes diffèrent profondément de ceux déjà connus), qu'il y a en

elles persistance de la spécificité fondamentale de l'élément originel.

Les fibrocytes issus du cœur peuvent devenir spontanément, *in vitro*, des histiocytes ; quelques observations en font foi ; cependant, le mécanisme de la variation était en grande partie méconnu. L'occasion s'est présentée de le comparer minutieusement, chez deux tissus profondément différents : épithélium vitellin et fibrocytes, et d'en montrer l'homologie (1934-1936). L'étude des transformations cellulaires porte donc principalement, dans ce travail, sur l'évolution de la cellule vitelline selon le type fibrocyte et, d'une manière plus générale, sur le passage à l'état histiocyttaire.

La multiplication caryocinétique de la cellule vitelline est bientôt inhibée, lorsque celle-ci digère ses enclaves. Elle continue à proliférer, cependant, en utilisant l'amitose et, principalement, un mécanisme particulier avec production normale de petits noyaux, puis de petites cellules. On retrouve ce dernier mode, d'autre part, lors de sa transformation en éléments histiocytaires et aussi, dans les mêmes circonstances, chez les fibrocytes. On a longuement attendu, avant d'en donner une systématisation, de réussir à vérifier à l'état vivant les images offertes par les préparations fixées au moment opportun. Ce procédé a été nommé : *méroamitose* (1935) ; on verra, plus loin, les caractères qui lui confèrent son individualité. Il permet le retour de la mitose avec formule chromosomique normale et assure le maintien des caractères spécifiques.

L'analyse des propriétés élaboratrices des cellules vitellines a fourni des résultats inattendus. Les grandes colonies épithéliales pures édifient, dans une substance fondamentale, des fibres réticulaires et des faisceaux collagènes très abondants (1935), ce que continuent à faire ultérieurement les cultures du type fibrocyte. On établit, en outre, que celles-ci, dépourvues même depuis plusieurs mois du deutoplasme qu'elles contenaient originellement, sécrètent un produit comparable au vitellus par son aspect, son évolution et sa composition histochimique (1935). Cette propriété n'est pas liée à la nécessité de l'absorption d'une masse deutoplasmique

extracellulaire. C'est par la réapparition de cette sécrétion identifiable que l'on démontre la persistance de la spécificité des éléments néoformés : ceux-ci restent donc chimiquement différenciés ; la fonction, dans une assez large mesure, est indépendante de la forme.

Cet ensemble de faits permet de répondre à des questions particulières. Mais il faut penser, à cause de leur nature et des difficultés théoriques qu'ils soulèvent, à la signification qu'ils auraient s'ils étaient retrouvés sur d'autres objets. Il convient de les situer dans le cadre des idées générales. Voilà une cellule épithéliale qui élabore du collagène et prend définitivement le type conjonctif. La désignera-t-on par le terme de fibrocyte, comme ce fut le cas avant la fin de ces recherches (1). Or, dans la suite, la persistance des propriétés sécrétoires est découverte chez cet élément, ce qui indique qu'il n'est pas devenu conjonctif en réalité ; d'autre part, R. LEVI-MONTALCINI et E. SACERDOTE (1937) observent de leur côté, dans le laboratoire de G. LEVI, l'édification de fibres réticulaires et collagènes par l'épithélium de l'iris en culture pure. Les résultats fournis sur ce point par l'entoblaste vitellin ne constituent donc pas une exception ; la valeur de certains critères histologiques est remise en jeu. La multiplication fréquente, en culture pure, et la persistance de la sécrétion spécifique chez des cellules épithéliales glandulaires passées à l'état histiocyttaire, éloignées les unes des autres, soulèvent d'autres problèmes, mais, jusqu'à présent, ce cas est unique. Le mode de formation des cellules du type histiocyte (d'origine con-

(1) Dès 1934, GUISEPPE LEVI écrit, dans sa remarquable monographie sur l'explantation (p. 416) : « Ich halte die Befunde von THOMAS für wichtig ; das Freiwerden der Zellen bestätigt die Annahme, dass im sog. Dottersyncytium die Individualität der einzelnen Zellen latent besteht, da die isolierten Zellen unbegrenzt überleben und sich vermehren können. Noch interessanter scheint mir der von THOMAS erbrachte Beweis, dass die durch Umwandlung von Epithelzellen entstandenen fibroblastenähnlichen Elemente unbegrenzt weitergezüchtet werden können. Nur möchte ich diesen Vorgang nicht mit dem Verf. als eine Umwandlung von Entodermzellen in Bindegewebszellen auffassen. Die fibroblastenähnliche Form halte ich für einen funktionellen Zustand, den die Epithelzellen bei besonderen Verhältnissen annehmen können. Im Falle des Dottersyncytiums hat THOMAS bewiesen, dass die Umwandlung der epithelialen in die fibroblastenähnliche Zellform, die unbegrenzt bestehen bleibt, mit dem Verbrauch des Dotters in Beziehung steht. »

jonctive ou même épithéliale) par méroamitose — ce qui permet une libération assez rapide d'éléments nombreux gardant leur spécificité — le déclenchement expérimental de ces phénomènes par l'action des ammoniums quaternaires du groupe de la choline (1935), sont des données susceptibles d'apporter éventuellement un peu de lumière aux théories histophysiologiques du système histiocytaire (spécialement en ce qui concerne la naissance d'éléments libres à partir des cellules fixes). Enfin, le fait expérimental qu'une masse nucléaire, beaucoup plus petite que celle du noyau-souche dont elle se sépare sans apparition de chromosomes, suffit à assurer la permanence des caractères spécifiques, soulève des difficultés d'interprétation au point de vue de la génétique ; elles ne doivent pas être passées sous silence.

On n'a donc pas craint de discuter assez complètement la plupart des résultats acquis et de faire des hypothèses ; celles-ci n'ont que la valeur d'étapes théoriques nécessaires à la pensée ; elles suscitent la recherche. Les deux premières parties de ce travail sont consacrées à la cellule vitelline en culture ; elle a été analysée en détail de façon à mieux comprendre les phénomènes de transformation dont elle est le siège. C'est pour cela qu'on trouve des chapitres sur sa structure et ses propriétés aux divers stades de son évolution, sur la croissance, la nutrition, la signification de l'énergie résiduelle, l'histochimie de la digestion du vitellus, la substance fondamentale, la sécrétion, enfin, le rôle probable de cet élément dans la vésicule ombilicale, *in vivo*. La troisième partie est réservée au passage des fibrocytes du cœur à l'état de cellules histiocytaires et aux phénomènes qui s'y rattachent. Dans la quatrième, on tient compte des faits généraux acquis : méroamitose, rapports de la multiplication indirecte avec les modes directs, inhibition de la mitose, physiologie expérimentale du passage à l'état histiocytaire, variation et spécificité, et on cherche leur signification.

Plutôt que de fragmenter ces quelques notions, disjointes à première vue, dans une série de brèves publications — ayant pour cela même plus de chances d'être parcourues — on les a réunies, parce qu'elles tendent plus ou moins à coopérer

au problème qui les domine toutes et qui les relie : celui, propre à la matière vivante, de la persistance de la spécificité au cours de la variation. Mais on ne se dissimule nullement les imperfections de ce travail. La bibliographie nécessaire a été considérable, puisque la plupart des sujets principaux de la cytologie expérimentale ont été abordés. Dans certains cas, on a cherché à dégager l'orientation des idées sans essayer d'être complet. Les conclusions proprement dites, souvent indiquées en italique dans le texte, ne comprennent que les données essentielles.

Les résultats n'ont pu être établis qu'au prix d'un effort longuement soutenu : les difficultés d'ordre technique étaient grandes. L'obligation que l'on s'est imposée d'analyser les phénomènes à l'état vivant, *lorsqu'ils surviennent spontanément*, a nécessité la répétition très fréquente d'expériences laborieuses. Vouloir suivre une transformation naturelle qui se produit assez rarement *in vitro* et ne peut être prévue oblige à surveiller le matériel en étude avec vigilance et à poursuivre l'observation, pendant tout le temps nécessaire, quand l'heure en est enfin venue. Les faits dont il est question dans ce travail n'ont été jugés acquis qu'une fois trouvées et précisées les conditions expérimentales permettant de les reproduire.

Ces recherches furent achevées grâce au concours de plusieurs circonstances. Je dois mon laboratoire à la bienveillance du savant admirable qu'était M. ROUX, je salue sa mémoire vénérée. M. REGAUD, en qui je retrouvai le modèle d'abnégation qu'était M. ROUX, m'accueillit à l'Institut du radium, m'aida de son mieux — avec la collaboration dévouée de M. LACASSAGNE et de M. FERROUX — à organiser une installation bien outillée, me fit bénéficier de son érudition critique et de sa profonde bonté. Il sait mon respectueux attachement ; qu'il soit sincèrement remercié ainsi que les directeurs de cet institut.

M. WINTREBERT se rappelle nos longues et nombreuses conversations, toutes les idées dont il me fit part, les conseils qu'il me donna ; je lui en témoigne mon affectueuse gratitude, de même que pour l'exemple de son labeur opiniâtre si longuement poursuivi sans défaillance. Victime de son dévouement et de son enthousiasme généreux, mon cher MAURICE PARAT m'offrit souvent le fruit de sa lumineuse intelligence. Le désintéressement et la belle technique de JEAN PAINLEVÉ nous permirent d'enregistrer un long film cinématographique.

La Caisse nationale de la Recherche scientifique a bien voulu contribuer à une partie des frais élevés nécessités par l'impression de cet ouvrage. J'adresse mes remerciements à son directeur et à ses membres.

La publication de ce mémoire a été acceptée, il y a près de deux ans, par M. BOUVIER, directeur des *Annales des Sciences naturelles (Zoologie)*. Ma gratitude envers M. BOUVIER est très grande ; il m'a rendu un service éminent ; je le prie de m'excuser d'avoir dû retarder si longtemps, pour des raisons indépendantes de ma volonté, l'impression de ce texte.

Matériel et techniques.

Les tissus utilisés proviennent de l'embryon de la Poule ; ils comprennent : l'entoblaste vitellin et les fibrocytes issus du cœur.

1. — PRÉLÈVEMENT ET CULTURE DE L'ÉPITHÉLIUM VITELLIN.

On emploie une méthode d'isolement anatomique qui assure l'obtention de cultures pures d'emblée : cette procédure est la meilleure, mais rarement applicable en général ; elle l'est au contraire aisément dans le cas de l'épithélium vitellin.

Le feuillet germinatif moyen est limité par la zone du sinus marginal ; au delà, la paroi avasculaire de la vésicule ombilicale est constituée seulement par l'entoblaste en dedans, l'ectoblaste en dehors. Cette disposition est décrite dans les travaux classiques des embryologistes ; elle est retrouvée et figurée par DUBUISSON (1906, fig. 40), puis à nouveau par GRODZINSKI (1930, fig. 6) ; j'en ai vérifié l'exactitude sur coupes et d'après les résultats de plusieurs milliers de cultures. Comment isoler l'un de l'autre les deux feuillets de l'aire avasculaire ? Il ne semble pas qu'on puisse pratiquement mettre à profit la différence d'extension respective des deux plans tissulaires (1) ; il convient, d'autre part, de cultiver l'entoblaste de toutes les régions situées hors du sinus marginal. On est donc conduit à essayer de les séparer mécaniquement, ce qui est, d'après l'expérience, le meilleur moyen. Ce clivage est même facile à opérer lorsqu'on a pris l'habitude des gestes nécessaires. On obtient de la sorte, quand la technique est appliquée correctement, l'entoblaste à l'état

(1) Des auteurs et, notamment, MATHIAS DUVAL (1884) considèrent que l'entoblaste ne double l'ectoblaste, au troisième jour de l'incubation, que dans la zone interne de l'aire vitelline, l'ectoblaste existant seul dans la zone externe. H. VIRCHOW (1891), H. DUBUISSON (1906) pensent que les deux feuillets s'étendent aussi loin l'un que l'autre.

pur (1). Remarquons, du reste, que, si les explants contenaient des cellules mésenchymateuses, — comme ceux de l'aire vasculaire ou de la

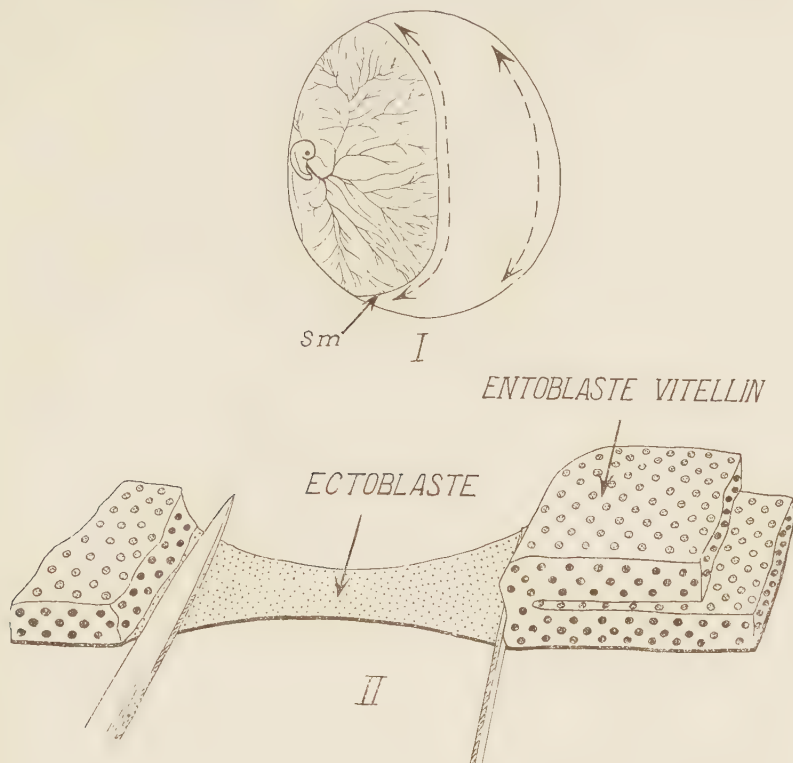


Fig. 1. — Schéma illustrant la technique du prélèvement de l'entoblaste vitellin.

1. La paroi avasculaire de la vésicule ombilicale d'un œuf de quatre jours, chez la Poule, est découpée en dehors du sinus marginal (sm) (zone entre les deux flèches). —
2. Décollement des deux feuillets extra-embryonnaires, constituant seuls le fragment prélevé.

plupart des épithéliums, — il suffirait d'appliquer les méthodes physiologiques d'isolement, employées en culture de tissus.

Technique. — Déposer stérilement dans un verre de montre le contenu

(1) Il arrive que des îlots de petites cellules rouges, chargés vraisemblablement d'hémoglobine, se développent *in ovo*, dès les tout premiers stades de la segmentation, dans l'aire blastodermique, ou même, ce qui est fort intéressant, sous la membrane vitelline anhiste, loin du bord libre des tissus en croissance. Ils se multiplient quelque temps, forment des pseudo-vaisseaux ou des amas, puis dégèrent. Ils peuvent être recouverts par les feuillets en extension, mais sont visibles. N'étant ni cultivables, ni greffables, ils ne constitueraient pas une cause d'impureté cellulaire, s'ils étaient prélevés par mégarde avec l'entoblaste, ce qu'il est aisé d'éviter. L'origine et l'évolution de ces petits éléments posent des problèmes curieux qui seront peut-être étudiés ultérieurement.

d'un œuf au quatrième jour de l'incubation. Prélever, à l'aide de ciseaux et de pinces, la paroi avasculaire de la vésicule ombilicale, en coupant à quelque distance du sinus marginal (fig. 1₁). Les fragments sont étalés, après lavage, sur un porte-objet recouvert d'un peu de liquide de TYRODE; l'ectoblaste est tourné contre le verre, l'entoblaste est donc en haut. La séparation des deux feuillets se fait avec deux couteaux de GRÆFE (fig. 1₂), ou avec un couteau et une pince. Après avoir fendu l'entoblaste, on le détache très délicatement, par petits coups latéraux, sans gratter. On doit arriver à en obtenir des fragments purs de grande taille, dépassant parfois un centimètre de long sur plusieurs millimètres de large. Il arrive qu'une légère action du couteau suffise à amorcer le décollement d'une grande surface (1). La réussite des cultures dépend en grande partie de la dextérité de l'opérateur. Il faut acquérir par la pratique le coup de main indispensable, de façon à manipuler rapidement, sans traumatiser les cellules. Les gros fragments sont recoupés, lavés, puis ensemencés.

Cultures en flacons. — a. *Milieu solide.* Plasma de Poule : 0^{cc},3 ; liquide de TYRODE : 0^{cc},6 ; extrait embryonnaire dilué : I goutte. Ensemencer en surface, un peu avant la coagulation (explant unique de 7 à 8 millimètres carrés, formé de fragments groupés ou mieux d'un seul de grande taille). Laver ensuite avec précaution le coagulum avec du liquide de RINGER pour le rendre mouillable. — b. *Milieu liquide* (ajouté aussitôt). Extrait embryonnaire dilué à 20 p. 100 (par exemple) dans le sérum du Lapin (pour empêcher la protéolyse), étendu lui-même à 25 p. 100 dans le liquide de TYRODE : en tout 0^{cc},5. Pour le travail courant, on peut employer le mélange suivant : extrait concentré, II gouttes ; sérum du Lapin, II gouttes, et liquide de TYRODE, VI gouttes. Le lavage des cultures et le renouvellement du liquide nutritif ont lieu tous les deux ou trois jours. La technique de la croissance ralentie est indiquée dans le texte (p. 244).

Cultures en goutte pendante. — Elles sont obtenues très facilement et doivent être toutes très bonnes. Déposer l'explant — sans même qu'il soit besoin de l'étaler d'une façon minutieuse — au centre d'une goutte de plasma, étendue sur une lamelle avec un couteau dont la pointe a été trempée dans de l'extrait dilué. Les traces introduites ainsi suffisent à provoquer la coagulation du milieu, puis le développement du tissu. Celui-ci est aussi très satisfaisant dans une goutte liquide (sérum, extrait embryonnaire dilué).

Quand les cellules vitellines ont acquis le type fibrocyte, soit en flacon, soit au cours des passages en goutte pendante (ceux-ci sont initialement difficiles à réussir), elles s'entretiennent comme des éléments conjonctifs

(1) Les feuillets des embryons en dégénérescence se clivent avec la plus grande facilité ; or, l'entoblaste extra-embryonnaire continue à vivre assez longtemps, dans ce cas, et prolifère abondamment *in vitro*.

(plasma : I goutte ; extrait dilué : I goutte ; partage et transport dans un milieu neuf tous les deux ou trois jours).

Si elles se transforment en éléments histiocytaïres dans un flacon, on peut les prélever et les passer en goutte pendant directement ; mais il est plus sûr d'opérer d'une autre manière. Lorsqu'on attend quelques jours sans intervenir, les cellules néoformées viennent adhérer au fond de celui-ci, dans les zones liquéfiées ; détacher alors le coagulum avec une spatule, laver, en déposer un nouveau (plasma, IV à VI gouttes ; tyrode, VIII à XII gouttes ; extrait dilué, II gouttes). Nourrir les cellules qui prolifèrent intensément avec du plasma hépariné (I à II gouttes d'héparine à 1 p. 1 000 pour X gouttes de plasma). Les éléments sont ensemencés ensuite en goutte pendant avec chance de succès (I goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué). Ces manipulations sont simplifiées par l'emploi d'un flacon spécial à lamelle amovible ; celle-ci, à laquelle les cultures adhèrent, est transportée d'un récipient dans un autre, ou sert à divers usages. L'observation du matériel en flacon est poursuivie à l'aide d'un microscope renversé, dans une étuve réglable permettant de prendre des repères exacts (1).

2. — CULTURES DE FIBROCYTES.

Elles sont obtenues dans les conditions habituelles, en goutte pendant, à partir de cœurs prélevés au huitième jour de l'incubation et conservées par passages. Il est bon, si on a la chance d'entretenir des souches où survient spontanément la transformation en cellules histiocytaïres, de les laisser évoluer plusieurs jours dans une goutte de plasma coagulé seulement par des traces d'extrait ; la variation cherchée apparaît ainsi plus facilement.

3. — TECHNIQUES MICROSCOPIQUES.

La plupart des techniques histologiques, cytologiques et histo-chimiques ont été employées pour contrôler et étendre les résultats des observations à l'état vivant et ceux des colorations vitales. Elles sont exposées dans le texte, lorsque cela paraît nécessaire. On ne peut que se limiter à quelques indications complémentaires.

Pratiquer des colorations ou des réactions, *in toto*, sur des cultures en goutte pendant est, certes, une condition favorable : elle donne le maximum de renseignements. Un autre avantage très grand est que les

(1) J. A. T., Étuve métallique réglable adaptée à l'appareil d'optique d'EDINGER, permettant le repérage et l'observation prolongée à température constante des cultures de tissus (*Arch. exper. Zellforsch.*, 1936, Bd. 18, S. 250-251), et : Un flacon nouveau pour la culture des tissus sur une lamelle amovible (*Arch. exper. Zellforsch.*, 1937, Bd. 20, S. 68-72).

procédés peuvent être appliqués sans dissolution préalable d'une partie des lipides. La présence du coagulum de plasma, dans lequel les cellules sont plus ou moins enchâssées, est un écueil ; il est possible d'affirmer, cependant, par expérience, que divers artifices permettent d'utiliser en principe presque toutes les méthodes connues, sur des cultures en goutte pendante. Une circonstance heureuse, dans le cas de celles d'épithélium vitellin, est la digestion du coagulum plasmatique par les cellules qui s'étalent en une seule couche : on obtient, sur ce matériel, des préparations splendides. Toutefois, les cultures évoluant longtemps en flacon doivent être coupées en série : elles sont incluses à la celloidine-paraffine, selon PETERFI.

Les fixateurs généraux ne doivent pas opacifier la couche de plasma coagulé lorsqu'elle existe. Le formol neutralisé, dilué à 10 p. 100 dans le liquide de RINGER, auquel on peut ajouter une très faible quantité d'acide acétique ou trichloracétique, ou de sublimé, répond à cet usage. Il convient cependant de choisir un mélange qui respecte mieux la structure et surtout la chromophilie du cytoplasme, et qui, en l'absence d'acide picrique fortement opacifiant, soit légèrement oxydant. Le fixateur suivant de formule très simple, que l'on peut avoir en réserve, donne satisfaction :

Formol neutralisé.....	10 centimètres cubes.
Nitrate d'urane.....	2 grammes.
Acide trichloracétique.....	0 ^{gr} ,50.
Liquide de RINGER..... Q. S. P.	100 centimètres cubes.

Ajouter facultativement, au moment de l'emploi : 1 p. 100 de liquide de RINGER saturé de sublimé. La quantité de nitrate d'urane peut varier en moins ou en plus. Les cultures fixées par ce mélange (les structures fibreuses et les membranes cellulaires sont particulièrement bien mises en évidence) sont aptes à subir ensuite diverses techniques, notamment la postchromisation, car le chondriome peut être conservé.

Parmi les méthodes générales de coloration, signalons celle de l'hématoxyline de MINK, d'emploi facile, et qui permet une bonne différenciation au sein de la couche de plasma.

Les meilleurs résultats particuliers, surtout en ce qui concerne l'épithélium vitellin, sont obtenus par les techniques suivantes :

Noyau : NAVACHINE, hématoxyline ferrique de REGAUD ; FLEMMING, safranine-vert lumière (prendre soin de déshydrater rapidement le coagulum dans l'alcool absolu au sortir du bain de safranine, avant de faire agir le vert lumière) ; BOUIN, DEL RIO HORTEGA-FOOT (prolongée un jour à 38°) ; réaction nucléale.

Fibres réticulaires et collagènes : azan, BIELCHOWSKY-MARESCH, DEL RIO HORTEGA-FOOT.

Chondriome : DIETRICH-PARAT, VOLKONSKY, ou hématoxyline de REGAUD. [Le fixateur de BENOIT respecte moins bien les chondriocentes

sur ce matériel. Le bain de bichromate de potassium à saturation à la température de 38° (après séjour de quinze à trente minutes dans le liquide de HELLY) doit durer un jour ou plus, si l'on veut en même temps étudier les lipines (hématoxyline de KULTSCHITZKY ou soudan III)].

Zone de Golgi: DA FANO; CHAMPY (ou BENOIT)-NASSONOW (durée d'imprégnation à 38° : huit jours) et, dans le cas particulier, DIETRICH-PARAT, hématoxyline ferrique de REGAUD-soudan III).

Les abréviations des légendes des figures ont la signification suivante : *Pl.* : plasma de la Poule ; *e. e. dilué* : extrait d'embryon de deuxième centrifugation.

J'ai fait toutes les photographies avec l'appareil d'EDINGER, les cultures étant le plus souvent vivantes.

PREMIÈRE PARTIE

LA CULTURE DE L'ENTOBLASTE VITELLIN CHEZ L'EMBRYON DE LA POULE

INTRODUCTION

L'entoblaste vitellin est étudié chez les Sauropsidés et les Mammifères par de nombreux auteurs. Ce tissu, à propos duquel HANS VIRCHOW (1875) écrit, lors de ses observations sur le troisième feuillet germinatif du Poulet, dans l'aire de la vésicule ombilicale : « la forme des cellules, leur disposition, la taille de leur noyau, leur contenu, tout indique qu'on a affaire à un épithélium », est considéré unanimement comme tel. Il a la propriété de digérer une partie du vitellus contenu dans la vésicule ombilicale (Voir p. 395), fonction de nutrition importante chez les Sauropsidés embryonnaires.

L'épithélium vitellin de la vésicule ombilicale, chez la Poule, est analysé, en culture, par très peu de chercheurs.

GUISEPPE LEVI (1924-1925) explante des fragments de blastoderme avant la formation de l'ébauche de la chorde dorsale. Les feuillets germinatifs se dissocient et s'étalent sous forme de membranes minces, par suite d'une migration cellulaire active. L'ecto- et le mésoblaste sont constitués par de grandes cellules jointives, disposées comme celles d'un épithélium pavimenteux, ou constituant un réseau. Dans les membranes entoblastiques (1), les cellules acquièrent l'individualité. Elles s'étalent en éléments extrêmement grands ; les masses de deutoplasme, décelables par les méthodes des graisses et des lipoides, y sont tassées dans la partie centrale. Des mitochondries existent entre ces masses ; dans le cytoplasme périphérique, très aplati et transparent, sont des chondriocentes minces, sinueux, éparpillés ; dans la zone marginale de la cellule, il n'y a ni enclaves, ni chondriosomes. Lorsque les cellules sont explantées en très petit nombre, elles s'écartent et ne restent reliées que par des prolon-

(1) L'entoblaste, chez le Lapin, constitue aussi des membranes épithéliales (MAXIMOW, 1925).

gements courts. Du reste, les membranes deviennent elles-mêmes des réseaux ; quelques éléments peuvent émigrer isolément. Mais G. LEVI ne suit pas l'évolution des cellules vitellines au delà du deuxième jour ; il ne constate que l'émigration en surface et l'étalement ; il pense qu'il n'y a pas multiplication.

Z. GRODZINSKI (1930) porte des fragments de la paroi de la vésicule ombilicale dans les liquides de LOCKE ou LOCKE-LEWIS, dans l'extrait embryonnaire ; il obtient ses meilleurs résultats avec un mélange de plasma et de solution de LOCKE-LEWIS. Il fait ses prélèvements entre la 48^e et la 72^e heure, hors du sinus marginal, de façon à éliminer le mésoblaste. Il note le développement de membranes épithéliales constituées par des cellules ecto- et entoblastiques individualisées. Ces deux catégories diffèrent peu de taille, car les éléments ectoblastiques s'étalent beaucoup, mais par le fait que les cellules entoblastiques contiennent de grosses enclaves de vitellus jaune ou blanc. Les deux variétés cellulaires forment des cellules géantes, peut-être par fusion ; il y en a dans presque chaque culture. Des cellules, surtout dans le liquide de LOCKE-LEWIS, se détachent de l'épithélium et émigrent ; elles prennent divers aspects. Après quelques jours, les cultures dégènèrent, les cytoplasmes deviennent granuleux, les noyaux pycnotiques, les boules de graisses confluent ; les éléments ne restent en relation que par des prolongements filiformes ; les colonies prennent l'aspect d'un filet irrégulier. GRODZINSKI n'étudie pas la structure fine des cellules vitellines, ni leurs propriétés physiologiques (sauf en ce qui concerne la phagocytose de l'encre de Chine) ; il ne parle pas de la multiplication cellulaire et n'obtient pas de cultures durables. Il étudie longuement les vacuoles et attribue une structure particulière aux enclaves de vitellus ; nous y reviendrons.

Viennent ensuite mes recherches sur les cultures pures d'épithélium vitellin, une technique optima ayant été élaborée ; elles font l'objet d'une série de publications préliminaires de l'année 1933 à 1937.

BRANCA (1913) considère que la signification de la vésicule ombilicale (humaine) doit être précisée par l'expérimentation ; POL GÉRARD (1930) est aussi d'avis que, pour trancher la question du rôle absorbant ou sécrétoire de l'entoblaste vitellin, il faut avoir recours à l'expérimentation.

Il semble que mes investigations permettent de résoudre expérimentalement ou de poser d'une façon précise quelques problèmes touchant la signification de la cellule vitelline.

PREMIÈRE SECTION
LES CULTURES ÉPITHÉLIALES

CHAPITRE PREMIER

La culture de la paroi de la vésicule ombilicale.

1. — ESSAIS DE CULTURE DE L'AIRE VASCULAIRE.

Des fragments de blastoderme, prélevés chez l'embryon de la Poule au troisième jour de l'incubation, sontensemencés dans une goutte de plasma mélangée à une goutte d'extrait embryonnaire dilué. Des parties d'entoblaste vitellin se développent sous forme d'une nappe épithéliale typique, constituée par des cellules polygonales bien individualisées, de grande taille, pourvues d'un gros noyau et renfermant de nombreux globules de vitellus. Mais la liquéfaction est importante, presque complète après le premier passage.

Je m'attache, dès lors, à cultiver l'entoblaste vitellin provenant de l'aire vasculaire, car ce tissu me paraît intéressant. Il faut essayer de préciser les conditions techniques les meilleures, savoir à quel stade de l'incubation il convient de pratiquer le prélèvement.

Des fragments de l'aire vasculaire de huit jours sont mis en culture. L'entoblaste pousse encore, sous l'aspect de grosses cellules polygonales ou un peu arrondies, riches en boules de vitellus. Deux remarques s'imposent : d'une part, la liquéfaction produite dans les cultures d'aire vasculaire est très importante ; d'autre part, il n'y a pas multiplication des fibrocytes provenant du mésenchyme, comme s'ils étaient inhibés par celle de l'entoblaste. On a donc l'espoir de réussir à isoler l'entoblaste vitellin à l'état pur, mais il est nécessaire de trouver une technique assurant le développement normal de ce tissu, sans liquéfaction.

Des blastodermes de dix-neuf heures ne donnent pas de cultures de cellules vitellines. Mais, avec des prélèvements effectués à la trentième heure, dans l'aire transparente et dans l'aire opaque, déposés dans une goutte de plasma et une d'extrait embryonnaire dilué, on obtient la croissance rapide et souvent importante d'une nappe de cellules vitellines. En général, la liquéfaction paraît moins considérable dans les cultures contenant l'entoblaste jeune que dans celles où ce feuillet est plus âgé. Les colonies épithéliales sont repiquées pendant deux passages en gardant leur même aspect.

Les caractères de la membrane de croissance provenant d'aires vasculaires âgées de trois à neuf jours sont semblables à ceux qui viennent d'être indiqués. Les fragmentsensemencés dans l'épaisseur du coagulum nutritif émettent des expansions, des digitations, qui tendent à gagner la surface du milieu. Elles manifestent, par la disposition de leurs éléments, une ébauche d'organisation. Les cellules du centre sont espacées, tandis que celles de la périphérie se tassent les unes contre les autres et se répartissent de telle sorte qu'elles constituent un bord épithélial défini. Parfois, à partir de ce bord, des cellules chargées de vitellus se ramifient ou émettent de longs prolongements. Il arrive aussi que quelques-unes émigrent, s'allongent et se ramifient, tout en restant chargées de vitellus.

Même lorsqu'on ensemence des villosités pourvues d'un axe conjonctivo-vasculaire, provenant de vésicules ombilicales âgées, l'énergie de croissance considérable de l'entoblaste empêche, en général, la multiplication des fibrocytes. Mais, si la nappe de cellules vitellines ne croît plus, ou d'une façon insuffisante, des fibrocytes peuvent apparaître tardivement, le quatrième jour par exemple, autour des vaisseaux du fragment mis en culture.

La liquéfaction. — C'est le gros écueil technique ; elle débute, parfois, d'une façon précoce dans le fragmentensemencé ; les cellules vitellines deviennent globuleuses, très grasses, se détachent, flottent dans le liquide d'exsudation de la culture où elles dégèrent. Dans une nappe épithéliale d'invasion, la liquéfaction commence souvent près de l'explant, parfois autour, tandis qu'il reste une lame épithéliale homo-

gène à la périphérie. Le coagulum de plasma disparaît d'abord ; il est en grande partie digéré au contact des cellules ; l'auréole de croissance devient plus claire ; il ne reste, en effet, qu'un épithélium étalé directement sur la lamelle de mica ou de verre qui supporte la culture. On remarque qu'un mince liséré de liquéfaction borde le gros noyau arrondi, ou s'élargit parfois d'un côté. Les cellules des nappes épithéliales qui ont digéré le coagulum de fibrine sont fréquemment allongées ; dans ce cas, l'aire d'auto-digestion est localisée à un ou à deux pôles du noyau, opposés selon le sens de l'allongement de la cellule. La liquéfaction augmente peu à peu ; la région juxta-nucléaire est véritablement perforée ; au delà, sont des enclaves de graisses et de vitellus. Enfin, les lames épithéliales sont elles-mêmes trouées de zones liquéfiées plus ou moins importantes, à limites généralement circulaires. Des cellules globuleuses, riches en graisses, flottent dans le liquide et dégénèrent ; d'autres restent adhérentes à la lamelle sur laquelle elles s'étalent, prennent la forme de quadrilatère, de triangle, etc., ou s'allongent, deviennent fusiformes ; les grains de vitellus y disparaissent à peu près complètement.

La fibrinolyse est-elle atténuée par la présence d'un autre tissu ? Des fragments de cœur d'un embryon de huit jours, ensemencés au contact de l'aire vasculaire, n'empêchent pas cet inconvénient ; la croissance des fibrocytes issus du cœur est insignifiante. Des portions de chorde dorsale et de tube nerveux de l'embryon de quatre jours n'atténuent pas non plus suffisamment la liquéfaction.

Si du vitellus est mélangé à la goutte de plasma et d'extrait embryonnaire, le développement du tissu est nul ou très faible. Ce produit, déposé sur le fragment, ensemencé lui-même à la surface du coagulum, permet la formation d'une belle mosaïque épithéliale dense. Les cellules sont chargées de petites enclaves vitellines et graisseuses, réparties principalement à la face du cytoplasme en contact avec le substratum.

Lorsqu'on introduit une goutte de plasma du Lapin dans le milieu de culture, composé d'une goutte de plasma de la Poule et d'une d'extrait embryonnaire, la multiplication est rallen-

tie et la fibrinolyse atténuée ; des fibrocytes peuvent se développer. Dans une goutte de plasma du Lapin et une d'extrait dilué, la croissance est plus lente ; on obtient cependant de belles nappes épithéliales.

Enfin, la diminution de la concentration de l'extrait donne des résultats plus satisfaisants. Dans une goutte de plasma de la Poule, mélangée à la même quantité de plasma du Lapin et d'extrait d'embryon dilué à 15 p. 100, la liquéfaction de l'épithélium vitellin n'est plus très gênante.

En outre, au cours de tous ces essais, les cultures ensemencées à la surface du coagulum ont une évolution plus rapide et plus harmonieuse. L'âge optimum du fragment que l'on veut cultiver semble être de trois à quatre jours.

En résumé, l'entoblaste vitellin de l'aire vasculaire se développe, in vitro, sous la forme d'une nappe épithéliale de cellules vitellines. Celles-ci sont douées d'une énergie de croissance extrêmement considérable qui suffit à empêcher le développement précoce du tissu mésenchymateux. La protéolyse est intense ; elle peut être atténuée par des artifices expérimentaux, comme l'introduction de plasma hétérologue (Lapin) dans le milieu, et par la diminution de la quantité de l'extrait embryonnaire.

Ces résultats préliminaires m'incitèrent à poursuivre l'analyse des propriétés de l'entoblaste vitellin de l'aire avasculaire. Ce territoire présente, de plus, l'avantage de ne pas contenir de feuillet embryonnaire moyen. L'étude expérimentale de l'aire avasculaire fut entreprise avant que ne fussent parvenus à ma connaissance les résultats des essais d'explantation publiés par Z. GRODZINSKI (1930).

2. — LA CULTURE DE L'AIRE AVASCULAIRE.

Les tissus sont prélevés au delà du sinus marginal, où la paroi de la vésicule ombilicale est constituée seulement par un mince revêtement d'ectoblaste et par l'entoblaste vitellin. L'aspect général des membranes épithéliales est le même que celui qui est observé dans les cultures de l'aire vasculaire ; mais les cellules, quoique très grandes, y sont de taille moins importante, la croissance paraît plus faible ; l'activité pro-

téolytique est, en tout cas, moins considérable. Dans un coagulum de plasma et d'extrait embryonnaire dilué, la liquéfaction n'est plus si accentuée, elle persiste cependant dans une certaine mesure ; elle est très atténuée lorsqu'on incorpore au coagulum une goutte de sérum du Lapin et une d'extrait d'embryon dilué à 15 p. 100 environ.

Des fragments d'aire avasculaire, séparés à divers stades de l'incubation, de cinquante-trois heures jusqu'à huit jours (il ne reste que très peu d'aire avasculaire au huitième jour), produisent des cultures épithéliales ayant les mêmes caractères morphologiques généraux. Que le prélèvement soit opéré à une région proche du sinus marginal, ou à une zone assez voisine du pôle anti-embryonnaire, les cultures sont, dans l'ensemble, analogues. Nous retrouvons, dans l'aire avasculaire, ce besoin qu'ont les cellules vitellines d'être étalées à la surface du coagulum et, vraisemblablement, de respirer avec intensité. Les cultures enfouies dans l'épaisseur du plasma solidifié ont une croissance mauvaise, dense, peu étalée ; elles sont limitées par une sorte de bourrelet dans lequel les cellules sont tassées sur plus d'une couche ; de ce bord partent des digitations plus ou moins longues, irrégulières, larges et ramifiées, ou minces. Quelquefois même, des files d'une seule rangée de cellules s'insinuent dans le milieu, soit en ligne droite, soit en arc de cercle ; le cytoplasme de quelques-unes s'étire en un long prolongement filiforme ou émet des ramifications.

Le vitellus mélangé au plasma provoque le ralentissement ou même l'arrêt de la croissance de l'entoblaste de l'aire avasculaire ; s'il est déposé à la surface de la culture, le développement se poursuit, mais il n'accélère pas à lui seul la multiplication. Il n'influe pas non plus sur la liquéfaction et semble, parfois, être la cause d'une disposition plus homogène des cellules qui ne renferment que des enclaves vitello-graisseuses petites et nombreuses. Enfin, le vitellus réparti sur le tissu est lui-même modifié ; lorsque les colonies ont poussé, il est devenu plus liquide, plus pâle, comme s'il avait été en partie digéré par l'entoblaste vitellin.

Les cultures épithéliales d'aire avasculaire sont difficiles à entretenir en goutte pendante ; on les perd souvent au troi-

sième passage, mais nous verrons qu'il est possible d'obtenir des souches durables.

Les cellules de l'ectoblaste. — Dans les explants de la paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale, il existe des cellules ectoblastiques ; que deviennent-elles ? Lorsqu'on réussit à entretenir les cultures, on observe qu'elles disparaissent vraisemblablement ; l'entoblaste persiste seul, par concurrence vitale. Mais, dans les cultures jeunes d'aire avasculaire, les cellules des deux catégories prennent part à l'édification de la nappe épithéliale, où l'entoblaste est, de beaucoup, le mieux représenté.

On ne peut, bien souvent, reconnaître avec certitude les cellules ectoblastiques, dont la structure est assez voisine, *in vitro*, de celles de l'entoblaste vitellin que nous étudierons en détail. Les cellules de l'ectoblaste ont un assez gros noyau arrondi ou ovale, acidophile, avec un plasmosome qui supporte la chromatine. Leur cytoplasme s'étale en de larges lames hyaloplasmiques. Leur taille est plus petite que celle des cellules entoblastiques. Ce qui les différencie principalement, c'est qu'elles sont dépourvues des grosses sphères de vitellus qui gonflent les cellules vitellines, comme l'a noté Z. GRODZINSKI (1930) ; elles ne renferment habituellement dans leur endoplasme que des gouttes de graisses réfringentes, non colorées. Cependant, ce critère de l'absence de vitellus est lui-même trompeur. Il est difficile de distinguer une cellule vitelline qui a précocement digéré son vitellus, qui n'en a plus que quelques petits granules en digestion, colorables au rouge neutre et décelables par les techniques histochimiques, d'une cellule ectoblastique dont l'endoplasme est plus ou moins chargé de graisses, ou même qui a pu phagocyter un peu de vitellus libéré. Dans les cultures épithéliales de la paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale, les cellules des deux feuilletts sont disposées les unes à côté des autres, en une seule couche ; elles ne se superposent pas. Dans les nappes épithéliales de croissance, la répartition des deux sortes d'éléments n'est pas définie. Cependant on distingue parfois des plages de cellules dépourvues de vitellus et qui pourraient être exclusivement ectoblastiques.

Nous verrons que la cellule vitelline épithéliale cesse bientôt d'employer la caryocinèse, pour sa multiplication, lorsqu'elle digère le vitellus dont elle est chargée. L'association, dans les cultures, des cellules ecto- et entoblastiques est une cause d'erreur dans l'observation du mode de multiplication des cellules vitellines, qui peuvent être confondues avec celles provenant du feuillet superficiel. En effet, des coupes de la paroi de la vésicule ombilicale, au cinquième jour par exemple, montrent des mitoses peu rares dans l'ectoblaste, et il est probable que ce tissu s'accroît *in vitro*, par le même procédé.

Bien qu'il y ait disparition très probable des cellules de l'ectoblaste, et prédominance de celles de l'entoblaste dans

les cultures que l'on arrive à entretenir par passages, il convient d'isoler, dès le début, l'entoblaste vitellin à l'état pur. Nous allons voir, du reste, que ces tentatives se sont révélées heureuses techniquement, et dans leurs résultats. Elles montrent, par exemple, que la croissance de l'entoblaste, suivant qu'il est ou non associé à l'ectoblaste, est nettement différente.

Les cultures pures d'entoblaste vitellin nous serviront de matériel principal de description. Toutefois, des figures et des détails seront empruntés, aussi, aux documents rassemblés sur les cultures de la paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale.

NOTE : *Essais de culture de l'ectoblaste extra-embryonnaire.*

En appliquant la technique de décollement de deux feuillets extra-embryonnaires de l'aire avasculaire (p. 223), on obtient l'ectoblaste sous forme d'une membrane très mince, grisâtre, assez résistante. Si l'isolement n'est pas pratiqué d'une façon parfaite, quelques cellules vitellines ou des sphères de vitellus adhèrent encore à ce tissu. Dans des conditions optima de clivage, lorsque, tirant simultanément avec douceur d'un côté sur le lambeau d'ectoblaste, de l'autre sur celui d'entoblaste, on arrive à décoller, sans une seule adhérence, des zones étendues de chacun des deux feuillets, il n'est pas rare d'obtenir des portions d'ectoblaste de 1 centimètre, quelquefois de 2 centimètres de long et même plus, sur plusieurs millimètres de large. Ces lambeaux, après lavages, doivent être recoupés pour être mis en culture. Il est possible de prélever aussi l'ectoblaste de l'aire vasculaire.

L'ectoblaste étalé, monté entre lame et lamelle, observé et photographié à l'état vivant, révèle une structure épithéliale en mosaïque serrée, à une seule couche de cellules. Celles-ci sont de petite taille, polygonales ou partiellement arrondies ou légèrement allongées (4μ 3 de long sur 3μ 3 de large en moyenne). Elles ont un noyau central arrondi, approchant de 2μ de diamètre, sont dépourvues de vitellus, mais leur cytoplasme est assez riche en petits globules de graisses.

Les fragments d'ectoblaste exigent d'être ensemencés à la surface du coagulum (une goutte de plasma et une d'extrait embryonnaire dilué), selon la technique de culture des épithéliums. Il est bon d'ajouter, par-dessus l'explant, un peu d'extrait dilué. L'étalement du tissu doit être réussi, alors que, pour l'entoblaste, cela n'est pas indispensable. La croissance des cultures est assez rapide ; en deux jours, on obtient une belle nappe épithéliale, quoique le développement soit beaucoup moins intense que celui de l'entoblaste. Les cultures peuvent contenir des

îlots de cellules vitellines très reconnaissables, mais sont pures dans les cas heureux.

L'ectoblaste s'étale sous forme d'une mosaïque délicate ; très serrées près de l'explant, les cellules sont étalées à la périphérie des cultures, forment des lames hyaloplasmiques, mais ne laissent pas d'interstices entre elles ; quelques-unes s'allongent. La limite des colonies est d'allure générale circulaire, sans digitation ; dans le détail, dessine des sinuosités, des angles ; ne constitue pas un bord épithélial aussi défini que celui des colonies entoblastiques. Les éléments augmentent de taille ; chacun renferme, en général, à côté du noyau arrondi, une boule assez grosse de graisses réfringentes, non colorées. Les lames hyaloplasmiques sont fragiles ; elles se rétractent après une exposition à la lumière électrique intense, ce qui provoque l'isolement partiel des cellules.

Le coagulum nutritif est assez souvent digéré en partie, en bordure des lames d'accroissement, mais la fibrinolyse est nettement moins considérable que chez les cultures d'entoblaste. Les cellules en dégénérescence, dans les zones liquéfiées par exemple, deviennent globuleuses, se chargent de nombreuses boules grasses et prennent un aspect très aréolaire. Elles sont basophiles, avec un petit noyau dense, périphérique.

Au premier passage, la croissance est plus faible ; le bord des colonies est plus irrégulier, avec quelques dentelures ; des cellules essaiment. Au deuxième passage, les cultures deviennent très difficiles à conserver.

Cet ectoblaste, dont la culture durable est probablement possible, subit-il des transformations analogues à celles qui sont exposées à propos de l'entoblaste ? Le problème est posé ; il reste à le résoudre.

CHAPITRE II

La culture pure de l'entoblaste vitellin.

Comment réussir l'isolement de l'entoblaste vitellin ? Pour obtenir ce tissu à l'état pur d'emblée, il suffit de le séparer de l'ectoblaste, à partir de la paroi avasculaire de la vésicule ombilicale, puisque, à ce niveau, il n'existe pas de feuillet moyen. Précisons encore que ce dernier, dans les conditions normales, ne dépasse pas la zone du sinus marginal (Cf. *Matériel et techniques*).

L'optimum de la date du prélèvement paraît être le quatrième jour, parce que le décollement des feuillets, à cet âge, est relativement facile à pratiquer et parce que l'entoblaste, que l'on peut ainsi isoler, est abondant. Dans les conditions d'une technique correcte, les cultures d'entoblaste vitellin sont, chaque fois, pures d'emblée.

1. — LES CULTURES EN GOUTTE PENDANTE.

De même que les cultures d'entoblaste associé à l'ectoblaste, celles d'entoblaste pur, dans un coagulum formé par le mélange d'une goutte de plasma et d'une d'extrait embryonnaire dilué, sont toujours affectées d'un certain degré de protéolyse qui rend les passages très difficiles à pratiquer. On peut y parvenir, mais il s'agit là de réussites où la chance intervient. L'incorporation au coagulum nutritif d'une goutte de sérum hétérologue, comme celui du Lapin, empêche la protéolyse. La raréfaction de l'extrait est un procédé technique meilleur ; il donne, à coup sûr, de bons résultats.

Dans de bonnes conditions (une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon), les cultures poussent très

rapidement jusqu'au troisième jour et atteignent, le quatrième, un centimètre de diamètre ou plus (1^{cm},4). Elles se disposent à la surface du coagulum, sous forme d'un épithélium à une seule couche de grandes cellules gonflées d'enclaves volumineuses de vitellus. Les colonies sont limitées très nettement par un bord épithélial circulaire qui, si la croissance initiale est retardée, apparaît dense, assez épais ; dans la suite, les éléments s'y répartissent en une seule couche. Le coagulum nutritif est digéré dans une zone correspondant à peu près à l'aire d'extension de la culture ; celui-ci subsiste dans son épaisseur normale, non loin du bord épithélial. Grâce à cette fibrinolyse, les cellules deviennent superficielles : c'est probablement [pour cela qu'il n'est pas nécessaire d'étaler l'explant à la surface du milieu. En fin de croissance, les colonies épithéliales reposent presque directement sur la lamelle, ce qui permet d'obtenir de très belles préparations cytologiques. Il arrive que les cellules entrent elles-mêmes en auto-digestion ; des trous ou des zones de liquéfaction, plus ou moins étendues, apparaissent dans la nappe épithéliale.

Si l'on incorpore une goutte d'ovalbumine à celle de plasma coagulé par des traces d'extrait embryonnaire, la croissance paraît moins rapide, peut-être à cause de la densité plus grande du milieu de culture. Le bord épithélial en développement est souvent un bourrelet assez épais, d'où partent quelquefois des cordons cellulaires. Dans la suite, l'étalement des cellules et la taille des colonies sont comparables à ceux des cultures sans blanc d'œuf. La croissance initiale n'est toutefois pas retardée lorsque l'ovalbumine est seulement déposée à la surface du coagulum nutritif.

Les cultures en milieu liquide. — Dans une petite goutte d'extrait d'embryon à 25-30 p. 100, la croissance de l'entoblaste vitellin est homogène et rapide ; elle se poursuit durant deux jours. Il en est de même, pendant trois jours au moins, dans une goutte de sérum. Les cultures gardent la structure épithéliale habituelle, avec de grandes cellules riches en vitellus bientôt digéré. L'entoblaste vitellin n'a donc nullement besoin d'un coagulum solide pour édifier sa

structure épithéiotypique, mais il est nécessaire qu'il adhère à la lamelle qui le supporte, sous peine de dégénérer. Toutefois, de telles cultures ne persistent pas longtemps ; dès le deuxième ou troisième jour, dans l'extrait ; le quatrième jour, dans le sérum, la membrane épithéliale est rompue, par suite de la rétraction des cellules qui s'arrondissent et se détachent ; elle peut entrer précocement en liquéfaction. Dans de l'extrait embryonnaire concentré, la croissance de l'épithélium est mauvaise ou nulle.

L'épithélium vitellin se développe même dans une petite goutte de liquide de Tyrode pur. La croissance est assez lente, mais il est possible d'obtenir de belles colonies épithéliales régulières, étalées sur la lamelle et qu'on arrive à conserver en bon état jusqu'au cinquième jour. Le tissu se nourrit de ses propres réserves ; une prolifération notable correspond à une digestion presque complète des enclaves.

Dans une goutte d'ovalbumine liquide, l'entoblaste a un certain accroissement, toujours sous l'aspect d'une lame épithéliale dense. Les enclaves de vitellus sont, ici encore, grosses et abondantes. La culture est plus durable, si un peu d'extrait dilué est mélangé à l'ovalbumine.

2. — LES CULTURES EN FLACON.

La technique d'ensemencement doit être exactement celle qui a été indiquée (p. 224). Le développement de la colonie, à la surface du milieu de culture, est extrêmement rapide. Le bord épithélial, bien dessiné, est mince et circulaire (Pl. I). La croissance se poursuit jusqu'au sixième ou septième jour. L'explant s'étale peu à peu et disparaît presque complètement. Il est parfois entraîné en partie, au cours de l'extension de la nappe épithéliale, puis les cellules de ces ilots s'aplatissent et se multiplient à leur tour. Finalement, la surface du coagulum est recouverte par un épithélium à une seule couche de cellules abondamment pourvues d'enclaves de vitellus. Il arrive que la croissance, retardée pendant un jour ou deux, débute brusquement d'une façon intense. Dans les flacons, comme en goutte pendante, le substrat nutritif est en grande

partie digérée au contact de la nappe épithéliale, où, du reste, des zones de liquéfaction plus ou moins importantes apparaissent assez souvent. On provoque la restauration de l'épithélium, en déposant très peu de plasma coagulé sur la portion digérée. Mais on constate aussi ce fait curieux que l'épithélium peut régénérer de lui-même, lorsqu'on ne fait que renouveler le milieu liquide, ou même lorsqu'on n'intervient pas : les cellules vitellines se multiplient et recouvrent la zone liquéfiée. Dans ce cas, elles sont en général plus petites, très serrées, fréquemment allongées, pauvres en vitellus ; dans une région périphérique de la culture, un bord épithélial se reforme. On peut donc observer, disséminées dans l'aire à grosses cellules habituelles, des zones denses à petits éléments. Ceux-ci, au septième jour, proviennent encore de parties de l'explant, s'il en reste, qui subissent une croissance secondaire et s'étendent en nappe sur l'épithélium déjà constitué. Cependant, il ne s'agit encore que de deux aspects des cellules vitellines.

3. — DESCRIPTION MICROSCOPIQUE GÉNÉRALE DES COLONIES.

Comme l'ont noté G. LEVI, Z. GRODZINSKI et moi, les cellules vitellines, quoique issues originellement d'un syncytium, sont individualisées dans les nappes épithéliales de croissance (Pl. II, 1 et 2). Les colorants usuels mettent en évidence leur membrane. L'endoplasme est gonflé d'enclaves de vitellus (Pl. III, 1 et 2 ; Pl. IV, 3).

Le bord épithélial des cultures est constitué par des cellules qui s'allongent, se tassent les unes contre les autres, concentriquement à l'explant et qui restent finalement disposées en une seule couche (Pl. II, 1, 2, 3, 4). La nappe épithéliale, limitée par ce bord, est essentiellement représentée par une mosaïque pavimenteuse de cellules étroitement juxtaposées, parfois assez régulièrement pentagonales (Pl. II, 1 et 2). Elles s'étalent, émettent des lames hyaloplasmiques étendues (Pl. II, 3, 4 ; Pl. III). L'individualisation cellulaire est alors plus difficile à observer, elle existe néanmoins. Il arrive que des éléments chevauchent ; les plus superficiels ont en général une

basophilie accrue ; les imprégnations argentiques révèlent qu'ils peuvent avoir des prolongements assez longs et ramifiés.

Ce qui étonne le plus, lorsqu'on examine les nappes épithéliales, c'est l'inégalité souvent considérable des cellules vitellines ; beaucoup atteignent ou dépassent 100 μ dans leur plus grande dimension ; d'autres sont moins volumineuses, pauvres en vitellus, avec un seul noyau arrondi, souvent petit. Certaines mesurent jusqu'à 200 μ de longueur et sont plurinucléées. On rencontre, enfin, d'énormes plasmodes, surtout dans les cultures en flacon. La planche IV, 2 en représente un de plus de 600 μ de long et de 250 μ de large, pourvu d'au moins trente noyaux de dimensions très différentes. L'entoblaste de l'aire vasculaire constitue aussi de très grands plasmodes.

Des zones de multiplication prennent souvent l'aspect de rosettes. Des cellules peuvent être groupées autour de volumineuses enclaves de vitellus, elles-mêmes extra-cellulaires. Quand l'épithélium a digéré son coagulum, ou lorsqu'il est cultivé en milieu liquide, l'espacement des cellules devient considérable (Pl. II, 4). Tout en restant encore unies, sans interstices, par leurs lames hyaloplasmiques étalées, elles tendent à s'allonger dans le même sens (Pl. III, 4 et 5) et acquièrent, de la sorte, une polarité.

4. — ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE LA CROISSANCE.

La croissance des cultures pures d'entoblaste vitellin en flacon dépend, en partie, de la réussite de l'ensemencement. Il convient de se conformer d'une façon rigoureuse aux conditions énoncées (p. 224). La manière plus ou moins délicate de décoller les deux feuillets embryonnaires a une réelle importance ; les cellules ne doivent pas être traumatisées. L'étalement du fragment ensemencé n'est pas absolument nécessaire, il est seulement préférable. Toutefois, les cultures enfouies dans le coagulum ou collées au fond du flacon ont une croissance mauvaise ou insignifiante.

La mesure de la surface des cultures, projetée et dessinée à un même grossissement toutes les vingt-quatre heures, depuis l'ensemencement, est effectuée avec un planimètre. Les nombres obtenus, ramenés en millimètres carrés pour exprimer la surface réelle, servent à établir une moyenne pour chaque jour. Notons que l'extension de la surface des

cultures traduit exactement l'accroissement de l'entoblaste vitellin, puisque l'épithélium se dispose, en général, en une seule couche de cellules.

Les essais préliminaires de mesure de la croissance, en flacon de CARREL, ont porté aussi bien sur des cultures d'entoblaste vitellin associé à l'ectoblaste que sur des cultures pures d'entoblaste. Lorsqu'on introduit, dans la partie liquide du milieu de culture, du sérum de la Poule à la concentration de 25 jusqu'à 100 p. 100, la protéolyse du tissu reste forte ; elle est supprimée quand la dilution est faite dans le sérum du Lapin à 50 p. 100, mais la croissance est atténuée. A la concentration de 25 p. 100, le sérum du Lapin ne modifie pas sensiblement le développement de l'épithélium ; la protéolyse est toutefois très diminuée.

A. — La croissance réelle moyenne.

Celle-ci est établie à des taux différents de concentration de l'extrait embryonnaire, dilué dans la solution de sérum du Lapin à 25 p. 100, dans le liquide de TYRODE (en tout 0^{cc}.5). Le lavage des cultures et le renouvellement du milieu liquide sont effectués tous les deux ou trois jours. On remarquera que la quantité absolue de sérum diffère légèrement, selon la concentration de l'extrait employé ; mais cette variation est très faible entre 10 p. 100 et 20 p. 100. En ce qui concerne le développement de l'entoblaste vitellin en l'absence d'extrait d'embryon, en multiplication non accélérée, la nourriture avec du plasma hépariné n'est pas une bonne méthode. Ce mélange peut coaguler, malgré le lavage préalable des cultures, probablement en raison des ferments abondants libérés par les cellules vitellines. La seule technique satisfaisante est d'ajouter, comme partie liquide, uniquement du sérum du Lapin à 25 p. 100 qui, de plus, ne doit pas être renouvelé pendant les six jours que dure la croissance. Les lavages et le renouvellement du milieu liquide sont, en effet, très funestes : l'épithélium se transforme en un réseau, puis dégénère.

Le tableau 1 expose les chiffres moyens qui permettent de construire les courbes (fig. 2). Dans l'extrait embryonnaire, dès la concentration de 10 p. 100 jusqu'à celle de 50 p. 100, la croissance des cultures est extrêmement rapide et forte. Les aires finales moyennes des colonies, dans l'extrait à

NOMBRE de cultures mesurées.	EXTRAIT d'embryon dans le sérum du Lapin à 25 p. 100.	0	1	2	3	4	5	6	JOURS.
4	50 p. 100	14,8	38,1	117,7	250,5	402,6	562,7	»	Moyenne en mm ² .
6	20 p. 100	12,2	29,2	87,3	193,2	302,4	416,2	476,7	
6	10 p. 100	9,2	16,2	49,9	139,4	258,3	378	454	
7	0 p. 100	14,6	19	52,1	108,1	164,7	208,1	227,9	

TABLEAU 1. — Croissance réelle moyenne de l'entoblaste vitellin pur de quatre jours en flacon de CARREL.

10 p. 100 et à 20 p. 100, sont assez peu différentes : 454 et 476 millimètres carrés à la fin du sixième jour ; celui à 20 p. 100 assure un développement excellent. Le premier jour, la surface des cultures n'augmente, dans l'extrait à 10 p. 100, que d'un peu moins du double ; mais de plus du double dans celui à 20 p. 100 et à

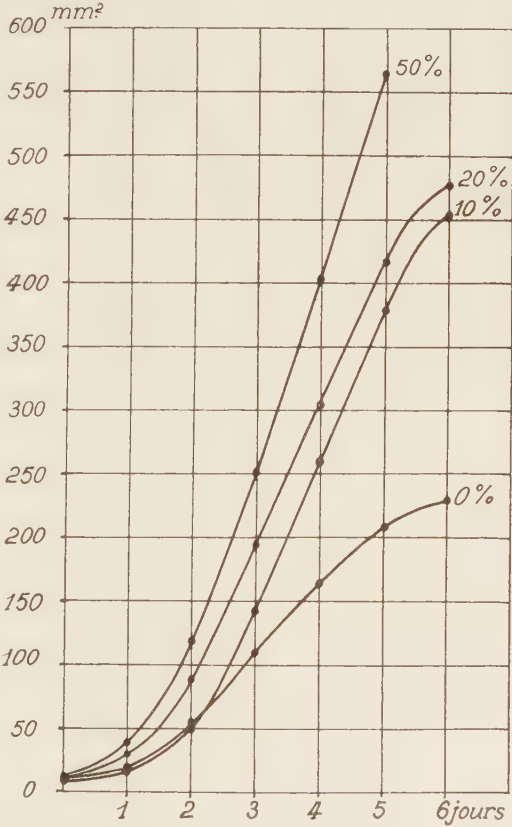


Fig. 2. — Croissance réelle moyenne de l'entoblaste vitellin de quatre jours, en culture pure en flacon de CARREL.

L'extrait d'embryon est dilué dans une solution de sérum du Lapin à 25 p. 100 dans le liquide de TYRODE. Le liquide des cultures (sauf à la concentration de 0 p. 100) est renouvelé tous les deux ou trois jours.

50 p. 100. Après le deuxième jour, l'accroissement nouveau est partout du triple ou de plus du triple ; après le troisième, partout de plus du double ; à la concentration de 10 p. 100, il approche même du triple. L'augmentation de surface des cultures est une fois encore de plus du double entre le troisième et le cinquième jour. La croissance est progressivement ralentie pendant le sixième. Au septième jour, les cultures épithéliales prennent l'aspect réticulaire et leur surface diminue. Dans l'extrait à 50 p. 100, l'évolution est plus accélérée ; au cinquième jour, la surface moyenne des cultures est de 562 millimètres carrés, mais la disposition de l'épithélium en un réseau apparaît dès le sixième jour (1).

Les cultures sans extrait d'embryon, nourries seulement de sérum du Lapin à 25 p. 100, ont aussi un développement important pendant six jours. L'augmentation de surface, faible le premier jour, approche du triple le deuxième, dépasse un peu le double le troisième ; il est encore de près du double entre le troisième et le cinquième ; au sixième, il est très faible. A la fin du sixième jour, la surface moyenne des cultures est de 227 millimètres carrés.

B. — *La croissance maxima.*

On observe, parfois, des cultures dont la rapidité d'extension et la taille finale sont vraiment extraordinaires. Le tableau 2 groupe les mesures de trois cas, choisis parmi les plus fortes croissances observées.

On voit, d'après les courbes (fig. 3), que la culture 8392,

(1) Dans l'extrait à 30 p. 100, la courbe moyenne, obtenue à partir de six cultures, est située entre celles des concentrations de 10 p. 100 et de 20 p. 100 (les nombres sont, de zéro à six jours : 7, 6-20-62, 3-161, 8-278, 5-386, 2-456,5). Si la concentration de 30 p. 100 correspond réellement à une croissance un peu inférieure à celle de 20 p. 100, il faut admettre que celle à 50 p. 100 révèle un autre état d'équilibre — par exemple en ce qui concerne la protéolyse — dû, à la fois, à la diminution plus sensible de la quantité de sérum du Lapin et à l'excès de l'extrait d'embryon. A 50 p. 100, les bonnes croissances sont du reste difficiles à obtenir. Qu'il nous suffise de savoir, en tout cas, que les croissances à 20 p. 100 et 30 p. 100 diffèrent peu et que certaines à 30 p. 100 peuvent même être exceptionnellement grandes (courbe 8392, fig. 3).

dans l'extrait embryonnaire dilué à 30 p. 100 dans la solution de sérum du Lapin à 25 p. 100, atteint, au sixième jour, la taille de 620 millimètres carrés. La culture 7943, dans l'extrait à 20 p. 100, dans les mêmes conditions, ne subit pas de lavages ni de renouvellement du milieu liquide pendant six jours. Or, sa croissance, traduite par une courbe en S, est particulièrement harmonieuse; cette colonie parfaite atteint au sixième jour: 628 millimètres carrés. Enfin, dans la culture 8246, le milieu liquide est légèrement alcalinisé; il est constitué par de l'extrait d'embryon à 30 p. 100, dilué dans le sérum du Lapin en solution à 25 p. 100 dans de la soude à M/100 (en liquide de RINGER). La culture qui, cette fois encore, est vraiment parfaite, évolue d'une façon rapide

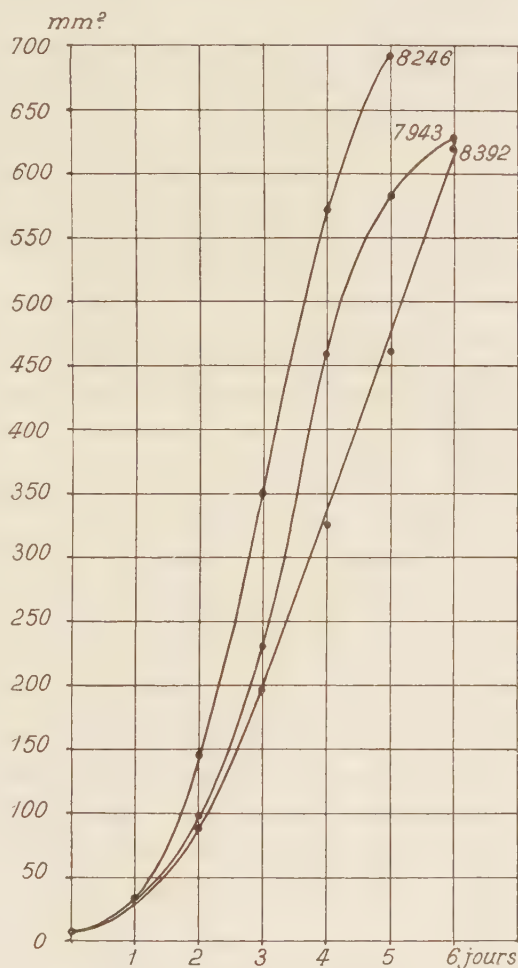


Fig. 3. — Croissance réelle maxima de trois cultures pures d'entoblaste vitellin de quatre jours, en flacon de CARREL.

8392 : e. e. à 30 p. 100 dans le sérum du Lapin à 25 p. 100. 7943 : e. e. à 20 p. 100 dans s. L. 25 p. 100, sans renouvellement du milieu liquide. 8246 : e. e. à 30 p. 100 dans s. L. 25 p. 100 (dilué dans NaOH M/100 dans le liquide de RINGER).

sans aucune zone de protéolyse. L'explant est complètement étalé au quatrième jour; au cinquième, la surface de la colonie est de 690 millimètres carrés; la disposition en réseau

apparaît au sixième. Dans de telles conditions, la surface interne du fond d'un flacon CARREL D3 n'est pas très loin

NUMÉRO de la culture.	0	1	2	3	4	5	6	JOURS.
8246	8,5	32,8	146,4 (×)	350	572	690 (×)	»	mm ² .
7943	7,9	33,5	99,6	230,8	457,4	581,6	628,5	
8392	9,2	32,4	90	195,9 (×)	325,5	460,5 (×)	620	

TABLEAU 2. — Croissance réelle maxima de trois cultures pures d'entoblaste vitellin de quatre jours, en flacon de CARREL. — (×) : jour du lavage et du renouvellement du milieu liquide.

d'être recouverte par la culture ; des lobes du bord épithélial peuvent progresser contre les parois verticales du récipient.

*C. — La croissance réelle de l'entoblaste vitellin
associé à l'ectoblaste.*

Lorsque les deux feuillets extra-embryonnaires sont associés dans la culture de la paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale de quatre jours, la croissance de l'entoblaste vitellin est nettement moins considérable que lorsque celui-ci est isolé. Le tableau 3 indique quelques mesures effectuées sur des cultures de la paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale.

L'extrait embryonnaire est dilué, dans les mêmes conditions, dans la solution de sérum du Lapin à 25 p. 100. Les courbes obtenues (fig. 4) expriment toutes une croissance beaucoup moins importante que celle de l'entoblaste vitellin pur (E. V., 20 p. 100). La culture 6037, dans l'extrait à 30 p. 100, accuse un développement plus faible que celui de la culture dans l'extrait à 20 p. 100 (un fait analogue a été indiqué en ce qui concerne l'entoblaste pur). La culture 6039, dans l'extrait à 30 p. 100, paraît artificiellement accélérée (surtout le deuxième jour où l'augmentation de surface est de plus du

NUMÉRO de la culture.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	JOURS.
6037	6,6	15,1	36,8	77,4 (×)	129,9	206,4	222	—	—	mm ² .
6038	5,8	11,1	24,4	63 (×)	107	138,9	186,7	—	—	
6039	6,7	11,5	55,6	125,6 (×)	179,7	209	262,6	—	—	
5915	6,5	9,8	27,5 (×)	52,7	99,5 (×)	118,3	149,7	174,9 (×)	180,8	

TABEAU 3. — Croissance réelle de quatre cultures, en flacon de CARREL, d'entoblaste vitellin associé à l'ectoblaste (paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale de quatre jours). (×) : jour du lavage et du renouvellement de la partie liquide du milieu.

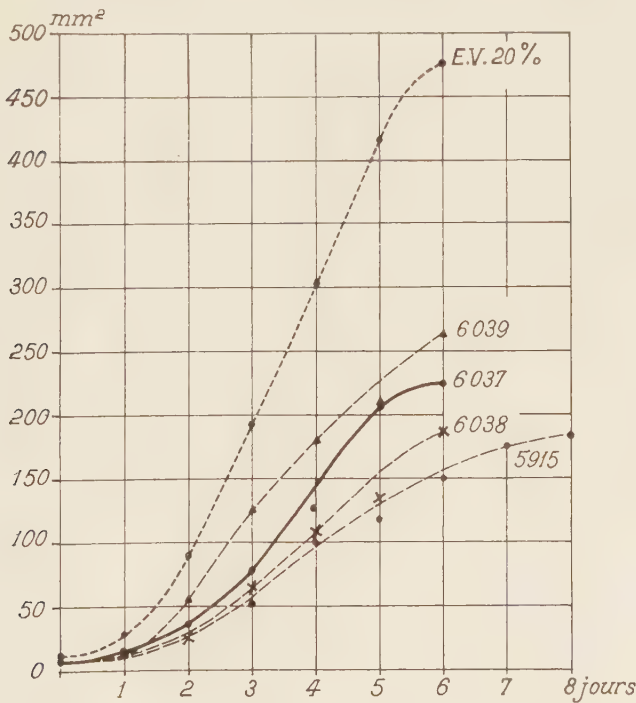


Fig. 4. — Croissance réelle de quatre cultures, en flacon de CARREL, d'entoblaste vitellin associé à l'ectoblaste (paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale).

Comparer à la croissance réelle moyenne de l'entoblaste vitellin pur dans l'extrait d'embryon dilué à 20 p. 100 dans le sérum du Lapin à 25 p. 100 (E. V. 20 p. 100) (6037 : 20 p. 100 dans s. L. 25 p. 100. 6038 : 30 p. 100 dans s. L. 25 p. 100. 6039 : de même, avec 0^{ae},1 d'héparine à 1 p. 1 000 dans le coagulum. 5915 : 30 p. 100 dans s. L. 50 p. 100).

quadruple), par l'introduction, dans le coagulum, de 0^{cc},1 d'une solution d'héparine à 1 p. 1 000. Lorsque l'extrait embryonnaire est dilué à 30 p. 100 dans une solution de sérum du Lapin à 50 p. 100, comme dans le cas de la culture 5915, l'accroissement est ralenti, mais dure plus longtemps, jusqu'au huitième jour par exemple.

D. — Les caractéristiques de la croissance.

En somme, le développement des cultures épithéliales d'entoblaste vitellin est extrêmement rapide en flacon D3 ; ce tissu peut s'étaler sur presque toute la surface libre du coagulum nutritif. Lorsqu'il n'y a pas d'extrait d'embryon dans la partie liquide du milieu, l'énergie de croissance est encore très considérable.

On remarquera que les mesures portent sur des colonies de premier ensemencement. Pour les épithéliums cultivés, autres que celui analysé ici, une telle procédure serait gravement entachée d'erreur. Il faut, en effet, que les nappes soient constituées uniquement par des cellules épithéliales, et, en outre, que ces cellules proviennent toutes de la même formation anatomique strictement localisée ; ce n'est pas le cas, semble-t-il, pour les épithéliums que l'on obtient d'emblée à partir de quelques organes, comme le rein par exemple. En ce qui concerne l'épithélium vitellin, la pureté histologique est assurée ; les différences d'accroissement ne proviennent que des variations individuelles des embryons, que des inégalités d'apparence qualitative des milieux et, surtout, de la manière de pratiquer l'ensemencement. Dans de bonnes conditions techniques, le développement des cultures — à part quelques cas exceptionnels qu'il convient d'éliminer dans l'établissement des moyennes — est, toutes choses égales, assez régulier et caractéristique pour que l'on puisse préciser certains détails.

Les grandeurs des surfaces finales des cultures, dans l'extrait embryonnaire à une concentration de 10 à 30 p. 100, ne diffèrent pas notablement. L'épithélium vitellin supporte l'extrait à 50 p. 100 ; dans ce cas, l'évolution des colonies est plus rapide qu'à des concentrations plus faibles. En outre, quelques autres mesures montrent que l'énergie de croissance, initialement si forte, diminue au cours des premiers passages. Une légère alcalinisation du milieu est souvent favorable.

Des cultures d'entoblaste en vie active, dans lesquelles le liquide n'est pas renouvelé, peuvent s'accroître d'une façon tout aussi harmonieuse et considérable que lorsqu'elles sont soignées tous les deux ou trois jours.

Enfin, l'entoblaste pur de quatre jours a un développement supérieur à celui qu'il accuse lorsqu'il est associé à l'ectoblaste, tout comme s'il n'était plus freiné, en quelque sorte, par ce dernier feuillet.

Les caractéristiques de la croissance expérimentale de l'entoblaste vitellin sont donc très particulières ; elles établissent entre cet épithélium et les autres des différences notables. Les éléments d'une comparaison ne sont toutefois pas nombreux, car nos connaissances sur la physiologie de la nutrition des épithéliums purs, normaux, *in vitro*, sont très restreintes. Des documents sont fournis principalement par CARREL et BAKER (1926), FISCHER et LASER (1928), sur les cultures pures d'épithélium de l'iris (A. FISCHER, 1922), et par DOLJANSKI (1929) sur celles d'épithélium hépatique. Ces tissus, surtout le deuxième, ont une énergie résiduelle de croissance faible ; l'épithélium de l'iris ne peut se nourrir uniquement des protéines du sérum ; le parenchyme du foie pousse d'une manière optima dans l'extrait d'embryon à 20 p. 100, beaucoup plus faible à 50 p. 100, insignifiante à 100 p. 100. L'épithélium vitellin utilise, dans une certaine mesure, les protéines du sérum ; en présence d'extrait de 10 à 50 p. 100, son développement est extrêmement accru ; les colonies deviennent géantes. *Il est remarquable de constater que la taille finale des cultures, sans facteur de croissance, est supérieure à celle des autres épithéliums cultivés avec de l'extrait d'embryon à une concentration optima.*

5. — LE pH DU LIQUIDE DE CULTURE.

Voici la technique suivie : des séries de cultures pures d'entoblaste vitellin de quatre jours, en flacon de CARREL, fournissent des liquides (extrait d'embryon à 20 p. 100 dans la solution de sérum du Lapin à 25 p. 100 dans le liquide de TYRODE), dont on mesure le pH au cours de la croissance du tissu. Les flacons ne sont ouverts, pour la première fois, qu'au moment de recueillir les liquides. Dans d'autres séries, des mesures

sont effectuées sur des liquides déposés à nouveau sur les cultures, après lavage de celles-ci, les 2^e, 3^e, 4^e ou 5^e jours. Les liquides de chaque série sont rapidement prélevés à la pipette et mélangés dans des tubes de 11 millimètres de diamètre, sous une couche d'huile de vaseline pure d'une hauteur de 2 centimètres environ. Ces tubes sont bouchés au caoutchouc. La lecture est effectuée aussitôt et aussi rapidement que possible (sur 1 ou 2 centimètres cubes) au moyen d'indicateurs colorés et du compara-

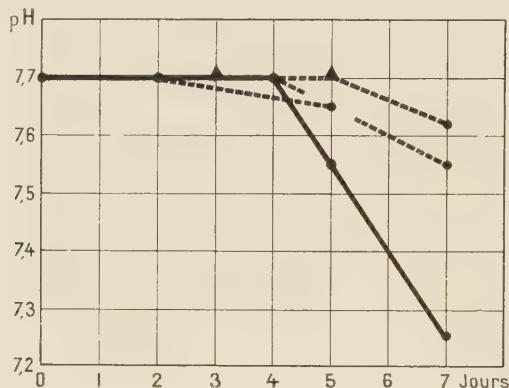


Fig. 5. — Variation du pH des liquides de cultures pures d'entoblaste vitellin de quatre jours en flacon de CARREL.

(Extrait d'embryon à 20 p. 100 dans la solution de sérum du Lapin à 25 p. 100 dans le liquide de TYRÖDE.)

teur de HELIGE. Il convient de prendre des précautions minutieuses pour éviter l'augmentation de l'alcalinité des liquides. Si, par exemple, on en laisse un non recouvert d'huile, dans un tube non bouché, le pH initial de 7,55 peut passer à 8,1, surtout à cause du départ du gaz carbonique. Les erreurs inhérentes à la mesure du pH de solutions protéiques, à l'aide d'indicateurs colorés, sont de même ordre dans les séries de mesures effectuées. Le pH peut être apprécié avec le comparateur de HELIGE à 1/10^e d'unité ; bien entendu, la deuxième décimale, résultant du calcul des moyennes, n'est donnée ici qu'à titre d'indication.

Le tableau 4 expose les chiffres obtenus à partir des mêmes séries de cultures dont les liquides ont été mélangés.

On voit (fig. 5) que le pH initial de 7,7 reste semblable à lui-même lorsque les flacons ne sont ouverts qu'au quatrième jour. Ensuite, le pH s'abaisse faiblement ; au cinquième jour, il est de 7,55. Au septième, lorsque la croissance des cultures est terminée, le pH, dans les mêmes conditions, est de 7,26. Quelques mesures montrent que les liquides renouvelés le deuxième jour, après lavage, ont un pH de 7,65 au cinquième ;

NOMBRE de liquides de cultures mélangés.	JOUR DU renouvelle- ment des liquides.	JOUR du prélève- ment.	AGE du liquide, en jours.	pH		NOMBRE total de liquides de cultures.	pH moyen.
				rouge de crézol.	rouge de phénol.		
»	»	Liq. de cult. avant l'ensem- encemt.	0	7,7 7,7 7,7	7,7 7,7 »		7,7
9 12	»	2 ^e	2	7,7 7,7	7,7 7,7	21	7,7
9	»	3 ^e	3	7,7	»	9	7,7
5 11 10 13 14 11	»	4 ^e	4	7,7 7,7 7,7 7,7 7,7 7,7	7,7 7,8 7,7 7,7 7,7 »	64	7,7
9	2 ^e	5 ^e	3	7,7	7,6	9	7,65
9	3 ^e	5 ^e	2	7,7	7,7	9	7,7
14 10 11 12 14 12	»	5 ^e	5	7,6 7,6 7,5 7,6 7,6 7,6	7,5 7,6 7,5 7,5 7,5 7,5	73	7,55
5	2 ^e et 4 ^e	7 ^e	3	7,6	7,5	5	7,55
10 9 13 7 7	5 ^e	7 ^e	2	7,7 7,6 7,6 7,6 7,7	7,6 7,6 7,6 7,5 7,7	46	7,62
12 8 8 5 9	»	7 ^e	7	— — — — —	7,3 7,4 7,2 7,2 7,2	42	7,26

TABLEAU 4. — Variations du pH des liquides de cultures pures d'entoblaste vitellin de quatre jours en flacon de CARREL. Mesures au comparateur de HELLIGE.

remis le troisième jour, leur pH est encore de 7,7 au cinquième; ajoutés le deuxième puis le quatrième jour, le pH passe, du quatrième au septième jour, de 7,7 à 7,55. Enfin, si les liquides sont déposés à nouveau sur les cultures le cinquième jour, le pH est de 7,62 au septième.

Le pH du liquide des cultures d'entoblaste vitellin en flacon s'abaisse faiblement. Il reste toujours alcalin ; il décroît de 7,7 à 7,2 environ, de l'ensemencement à la fin de la croissance, au septième jour, lorsque, dans l'intervalle, les liquides n'ont pas été renouvelés ni les flacons ouverts. Cette variation minime du pH peut expliquer, en partie, le fait que l'évolution des cultures d'entoblaste vitellin non soignées, dans les flacons, est quelquefois parfaite. On remarquera aussi que, dans de telles conditions, le début du ralentissement de la croissance le quatrième jour (Voir par exemple la courbe 7943, fig. 3) correspond au point d'abaissement du pH .

CHAPITRE III

Étude du cytoplasme de la cellule vitelline.

Elle est poursuivie sur des cellules épithéliales en multiplication active : dans une goutte pendante de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon, ou dans une goutte liquide d'extrait dilué ou de sérum (il a été dit que, dans toutes ces conditions, la multiplication est initialement active). Nous envisagerons successivement : le cytoplasme et ses constituants, puis les enclaves de vitellus et leur digestion.

La structure de la cellule vitelline est étudiée à l'état vivant par l'observation microscopique directe dans une étuve à 38° et, accessoirement, par l'enregistrement cinématographique, dans des conditions d'activité physiologique normale.

Les cellules vitellines sont animées de mouvements constants provoqués par l'étalement de l'explant, puis par l'extension très rapide de la nappe épithéliale dont les éléments se multiplient. Ces mouvements de glissement, mais aussi en partie amiboïdes, sont d'assez faible amplitude. Ils se traduisent par des déformations ne touchant que le détail de la structure générale des cellules, qui de polyédriques deviennent plus ou moins arrondies, allongées, etc... Ils affectent surtout la répartition des enclaves dans l'endoplasme ; il en résulte l'apparition éphémère de régions où le vitellus est peu abondant, d'autres où il s'accumule. Près du noyau, se trouve généralement une zone dépourvue de grosses enclaves.

1. — LES CONSTITUANTS FIGURÉS DU CYTOPLASME.

Ils sont représentés essentiellement par des vacuoles, des chondriosomes et une zone de GOLGI.

A. — Les vacuoles.

L'étude du cytoplasme de la cellule vitelline épithéliale montre, très clairement, qu'il y a lieu de distinguer les vacuoles proprement dites, colorables au rouge neutre, des enclaves de vitellus en digestion qui provoquent la formation de zones d'hydrolyse et prennent aussi le rouge neutre. Grâce aux transformations de la cellule vitelline en deux autres types cellulaires tout d'abord dépourvus d'enclaves, il est possible d'analyser de façon sûre (Voir discussion, p. 382 et p. 449) les constituants du cytoplasme en fonction de la structure puis de l'activité physiologique.

Si l'on emploie avec rigueur le procédé de la coloration vitale des vacuoles, tel qu'il a été utilisé surtout par A. GUILLIERMOND, par M. VON MÖLLENDORFF, MAURICE PARAT, etc., on se rend compte que, dans des conditions semblables, les résultats sont toujours de même ordre. L'observation de la coloration au rouge neutre en solution très diluée, au 10 000^e par exemple, dans les liquides de RINGER ou de TYRODE, doit être poursuivie, dès le début et sans arrêt, sur des éléments en parfait état physiologique, à l'optimum de température et d'éclairement à la lumière diffuse. Les premiers stades fournissent seuls des renseignements qui caractérisent les vacuoles proprement dites du cytoplasme et non des artefacts provoqués par la surcoloration et l'accumulation. A travers un coagulum de plasma, la pénétration est assez inégale ; il est bon de choisir des cellules très superficielles ou en milieu liquide.

Les vacuoles de la cellule vitelline épithéliale (Pl. XXV, fig. 1) sont sphériques, petites, peu nombreuses, réparties autour du noyau arrondi. Lorsque les cellules sont un peu allongées par suite du groupement des enclaves de vitellus vers une des extrémités du cytoplasme, les vacuoles colorées au rouge neutre tendent à se rassembler d'un côté du noyau.

Nous avons vu (p. 233) que la liquéfaction des cellules commence en liséré autour du noyau, ou se localise à un ou même à deux pôles opposés. La situation de ces zones d'autodigestion correspond à la place que peuvent occuper les vacuoles colorables au rouge neutre. Il est probable que c'est à partir

de celles-ci que sont libérés les ferments protéolytiques qui contribuent à la digestion du vitellus, liquéfient le plasma coagulé, puis le cytoplasme lui-même.

B. — *Le chondriome.*

Plusieurs techniques (entre autres celle du *Vert Janus B* de HÖCHST, post-vitalement) mettent en évidence le chondriome de la cellule vitelline ; les résultats les plus fidèles sont obtenus par le procédé de DIETRICH-PARAT suivi de la coloration à l'hématoxyline ferrique de REGAUD ou à la rubine acide-bleu, selon VOLKONSKY.

La planche XXVI, figure 1, représente une cellule étalée, traitée par cette dernière méthode. Le chondriome se détache en rouge sur fond bleu. Des mitochondries existent entre les enclaves de vitellus en digestion ; parmi celles-ci, dissoutes par les réactifs, il en est quelques-unes, peu digérées, qui persistent sous forme de boules rubinophiles. Les chondriocontes sont des filaments grêles, très abondants, assez longs, flexueux, parfois à peine renflés à leurs extrémités. Ils sont principalement groupés dans l'endoplasme, à la périphérie de l'amas des enclaves vitello-graisseuses autour desquelles ils peuvent s'enrouler ; certains s'appliquent contre le noyau. On remarquera que des chondriocontes sont situés dans l'hyaloplasme, assez près du bord.

Les techniques employées pour la détection des lipines, après postchromisation, révèlent aussi en partie le chondriome (Pl. XXVI, fig. 2 et 3).

C. — *La zone de GOLGI.*

Lorsque la cellule vitelline épithéliale est encore en multiplication active, cette zone est peu caractérisée. On arrive cependant à la reconnaître autour (Pl. XXVI, 3) ou à côté du noyau (Pl. XXVI, 1, à la droite ; 2, à la gauche), selon le stade d'évolution.

Après imprégnation osmique (CHAMPY-NASSONOW, BENOIT-NASSONOW pendant 7 à 8 jours à la température de 38°; cultures de 3 à 5 jours

dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon), on y décèle quelques granules noirs correspondant par leur situation, leur taille et leur disposition, aux vacuoles du rouge neutre. Ils se groupent mais restent distincts, lorsque la cellule commence à acquérir une polarité; ils ne se disposent pas en réseau. On peut apercevoir autour d'eux (surtout si l'on ne procède pas au blanchiment par le permanganate-acide oxalique) une région finement granulée, légèrement plus brune que le reste du cytoplasme.

Nous verrons, dans la suite, que la zone de GOLGI se développe à mesure que les propriétés sécrétoires se manifestent (p. 322, 365, 367, 386, 445. 448). Mentionnons, dès maintenant, qu'elle est constituée par des vacuoles, des chondriocotes et une substance lipinique diffuse.

2. — LES LAMES HYALOPLASMIQUES.

Dans les colonies en mosaïque, nous avons noté que les limites des cellules sont visibles sur le matériel vivant et mises facilement en évidence par des colorants. Toutefois, il n'y a pas de ponts intercellulaires décelables par la technique de DEL RIO HORTEGA pour les fibrilles épidermiques.

Au fur et à mesure de l'accroissement de l'épithélium, l'exoplasme de chaque cellule s'étale en une large lame hyaloplasmique très mince, dépourvue d'enclaves et de vacuoles, mais où l'on rencontre, dans les cas d'extension moyenne, quelques chondriocotes. Les techniques spéciales font apparaître, dans les membranes exoplasmiques, des gouttelettes ou de fins granules lipiniques (Pl. XXVI, fig. 2 et 3) qui résultent de la lipophanérose provoquée par la postchromisation. Ces granules sont d'autant plus petits qu'ils sont plus près de la limite de l'hyaloplasme; le soudan les colore en jaune orangé pâle (Pl. XXVI, fig. 2, équivalent de la méthode de CIACCIO) et l'hématoxyline de KULTSCHIZKY en brun (Pl. XXVI, fig. 3). Si le bain dans la solution de bichromate de potassium est prolongé plus d'un jour, la lipophanérose n'augmente pas d'une façon considérable, même si la durée atteint six ou huit jours. Lorsque les lames hyaloplasmiques sont en rétraction, elles deviennent plus chromophiles en général, plus basophiles en particulier.

Les lames hyaloplasmiques sont fragiles. Diverses influences provoquent leur rétraction, par exemple l'exposition à la lumière électrique intense, même en flacon, à travers le coagulum de plasma, ou encore un choc assez violent porté à la culture : les cellules s'arrondissent, la colonie tend à se liquéfier. Les substances chimiques qui produisent des effets analogues n'agissent pas, dans une certaine mesure, par abaissement de la tension de surface. C'est ainsi que l'oléate de soude n'augmente pas sensiblement la rétraction de l'hyaloplasme (Voir p. 342). Mais celle-ci est progressive et souvent intense avec les alcalis dilués, le venin de Cobra, tandis que les acides étendus n'ont pas d'effet.

3. — LES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES GÉNÉRALES.

Des cultures d'entoblaste vitellin pur de quatre jours, dans une goutte de sérum ou une de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon, sont éprouvées au point de vue de leurs propriétés de phagocytose et d'accumulation. Les produits sont dilués au moment de l'emploi dans le liquide de TYRONE. Les cultures traitées sont examinées plusieurs fois, afin de surveiller leur évolution à l'état vivant, puis fixées au formol neutre à 10 p. 100 et colorées par une teinture nucléaire ou parfois cytoplasmique, faisant contraste avec la couleur du produit expérimenté.

On dépose sur des cellules, le deuxième ou le troisième jour après l'ensemencement, une goutte d'une dilution d'encre de Chine. Six et huit heures plus tard, on retrouve des grains noirs, parfois dans la région périnucléaire (vacuome) et, plus ou moins abondants et agglutinés, dans les enclaves de vitellus en digestion ou dans la zone endoplasmique qui les entoure immédiatement. Les grains ne sont pas accumulés à d'autres places chez les cellules épithéliales étalées en bon état, ni dans les enclaves non digérées. Les éléments en rétraction, ou qui chevauchent, peuvent amasser l'encre quelquefois intensément. Cette substance, même concentrée, ne modifie pas l'étalement de l'hyaloplasme après huit heures de contact.

Le trypano-bleu à 1/2 000 et le carmin de ORTH à 1/20 sont utilisés selon deux modes : soit mélangés au milieu de culture, à parties égales, lors de l'ensemencement du tissu, soit dépo-

sés (1 goutte) sur les cultures âgées de deux et trois jours. Il est bon, dans le dernier cas, de laisser les préparations renversées lorsqu'on les remet à l'étuve, de façon que le colorant repose sur la colonie.

Dans le mélange de sérum ou de plasma et de trypano-bleu, l'entoblaste vitellin s'accroît d'une façon satisfaisante, mais le bord épithélial de la culture tend à se disloquer précocement. Les enclaves, à la périphérie de l'explant, deviennent rapidement bleues; elles restent teintées lorsqu'elles sont entraînées par les cellules en émigration. Après un, puis deux jours, on retrouve le colorant dans des enclaves de la nappe de croissance et, sous forme de grains, dans des zones cytoplasmiques contiguës aux sphères vitellines. Le trypano-bleu est accumulé inégalement, selon le stade de digestion des enclaves. Celles qui ne sont pas digérées ne contiennent pas de colorant; d'autres sont bleutées, ou uniformément bleues; d'autres encore renferment des grains ou des amas centraux irréguliers ou des plages périphériques bleu foncé. Les éléments à enclaves très digérées n'accumulent que peu, ou même pas, le colorant acide. Les cellules du bord épithélial sont celles qui accumulent le plus. Les grains ou les enclaves de vitellus libérés sont bleus ou non teintés, selon qu'ils sont ou non en digestion.

Lorsque le trypano-bleu est ajouté aux cultures pendant la deuxième moitié de leur croissance, l'accumulation est plus faible. En six et huit heures, le colorant est amassé seulement par un petit nombre d'enclaves de vitellus en digestion; beaucoup de cellules ne l'absorbent pas. Après un jour, les enclaves teintées sont plus ou moins nombreuses; les stades sont analogues à ceux décrits précédemment. Plusieurs cellules de l'auréole d'accroissement n'accumulent que peu ou pas. Sous l'action du trypano-bleu à 1 p. 100, les lames hyaloplasmiques se rétractent en moins d'une heure; puis les éléments se détachent de la lamelle et dégénèrent.

Le carmin de ORTH, utilisé de la même manière que le trypano-bleu, donne des résultats très comparables à ceux recueillis grâce au colorant électro-négatif. Mélangé au milieu de culture à l'ensemencement, à la forte concentration de 1/20,

il empêche souvent la croissance ; il est cependant possible d'obtenir de belles nappes épithéliales. Les enclaves en bordure de l'explant sont rapidement rouges ; elles sont entraînées par les cellules lors de l'extension de l'épithélium. Dans la mosaïque, le carmin est accumulé intensément, en général, par les enclaves en digestion. Les grains et les enclaves libres, en digestion, sont rouges. Déposé sur des cultures de deux ou trois jours, le carmin de ORTH est assez peu accumulé en six et huit heures. Aux dilutions de 1/20 et de 1/100, après un jour, l'accumulation est effectuée dans les enclaves en digestion ou dans la zone qui les entoure, mais avec une intensité plus faible que lorsque le colorant est ajouté à l'ensemencement ; plusieurs cellules n'en amassent pas, ou que peu.

Comment se comporte le vitellus, prélevé *in ovo*, à l'égard du trypano-bleu à 1/2 000 et 1/1 000 et du carmin lithiné à 1/20, dans du sérum dilué à 50 p. 100 dans le liquide de TYRODE ? Les mélanges sont faits en tube à essai ; une goutte est étalée entre lame et lamelle ; chaque préparation est lutée à la paraffine. Dans le vitellus frais (œuf considéré comme fécondé), les grains ne se teintent pas, mais les colorants pénètrent lentement dans des sphérules et des sphères réfringentes homogènes ou contenant quelques granules ; le carmin agit plus vite que le trypano-bleu ; après une heure trente, par exemple, quelques sphères réfringentes sont roses ; dans la suite, ces formations demeurent respectivement roses et bleutées ; les grains, incolores.

Au huitième jour de l'incubation, le trypano-bleu colore d'un bleu plus vif les sphères, mais non les grains du vitellus central épais ; par contre, il teinte en bleu assez intense les grains des sphères du deutoplasme liquide de la région périphérique de la vésicule ombilicale.

Des érythrocytes d'un coq sont déposés, en assez grande quantité, sur des cultures d'entoblaste vitellin pur, en fin de croissance dans une goutte de sérum ; les colonies sont fixées et colorées un jour plus tard ; les érythrocytes ne sont pas lysés, ni phagocytés par les cellules. Ils sont aussi répartis, d'autre part, dans le liquide recouvrant des cultures en plasma, en cours de développement dans les flacons à lamelle

amovible (l'épithélium est superficiel ; la mince couche coagulée qui le recouvre, déjà en grande partie digérée) ; puis les colonies, qui continuent à proliférer, sont prélevées avec leur disque de mica et traitées comme des préparations en goutte pendante. Au bout d'un jour, les cellules rouges ne sont ni détruites, ni capturées. Trois ou quatre jours s'étant écoulés, elles ne sont pas phagocytées par les cellules, mais en grande partie digérées dans le liquide. L'examen direct et les frottis ne révèlent dans celui-ci, — parmi de nombreuses enclaves de vitellus libérées, — que de rares érythrocytes de taille et de structure normales ; les autres ont rapetissé — leur cytoplasme a perdu son éosinophilie, est devenu basophile, réticulé, granité — ou sont en dégénérescence complète ; il ne s'agit donc pas seulement d'hémolyse. On ne peut affirmer qu'il n'y ait pas quelques restes d'érythrocytes parmi les boules basophiles des grandes enclaves des cellules vitellines, mais cela paraît peu probable ; en tout cas, dans les conditions de ces expériences, on n'en remarque pas d'identifiables.

En résumé, la cellule vitelline capte des grains d'encre de Chine, accumule plus ou moins intensément un colorant acide comme le trypano-bleu ou un colloïde comme le carmin lithiné. Tous ces produits sont retrouvés dans les enclaves de vitellus en digestion et dans la bordure endoplasmique qui les entoure. Chez les cellules qui ont digéré presque complètement leur vitellus, ces propriétés sont très peu indiquées. La cellule vitelline, dans les conditions où nous sommes placés, ne phagocyte pas des érythrocytes, mais ceux-ci sont lentement digérés dans le liquide de culture, vraisemblablement par les ferments libérés par le tissu.

Nous connaissons déjà les caractéristiques de la croissance et les capacités principales de nutrition des cellules ; nous aurons l'occasion d'analyser (p. 297 et p. 374) d'autres propriétés, liées à la digestion du vitellus ; puis nous mettrons en évidence des fonctions de sécrétion (p. 362).

4. — LES ENCLAVES DE VITELLUS. LEUR DIGESTION.

A. — *Aspect général dans la cellule vivante.*

Pendant les premiers stades des cultures, l'endoplasme des cellules est gonflé de très grosses enclaves de vitellus, arrondies, ovales, parfois déformées et irrégulières, mesurant fréquemment 60 à 80 μ de long, ou même plus (Pl. III, 1 et 2; Pl. IV, 3). Les unes sont colorées complètement en jaune brun et sont granuleuses. D'autres, en général moins abondantes, constituées seulement par du vitellus blanc, sont plus homogènes et plus facilement déformables.

Lorsque le milieu est constitué par le mélange d'une goutte d'ovalbumine et d'une de plasma, les masses de vitellus blanc augmentent de nombre (Pl. IV, 3).

Les enclaves sont digérées plus ou moins précocement dans les cellules ; elles deviennent irrégulièrement granuleuses, car des boules de graisses s'y forment (Pl. III, 2) et grossissent. Celles-ci apparaissent surtout en bordure de l'enclave ; les plus éloignées du centre sont les plus petites, mais la région centrale peut aussi être transformée en graisses. Finalement, il ne reste qu'un amas de sphères inégales, incolores et réfringentes, quelques-unes très grosses.

Les phases de cette digestion sont représentées d'une manière accélérée et suggestive par le film cinématographique. Les enclaves se déplacent avec vivacité, quelquefois avec brusquerie ; des grains, déjà très réfringents, y sont agités comme s'ils étaient à la surface d'un liquide en ébullition ; des granules y sont animés du mouvement brownien. Il existe enfin un phénomène curieux de rotation des enclaves qui tournent parfois sur elles-mêmes, assez régulièrement, de près de la moitié du cercle, puis reviennent à leur position initiale ; elles peuvent recommencer plusieurs fois.

B. — *Étude microscopique.*

Au cours de leur digestion dans les cellules, les enclaves de vitellus jaune ou blanc fournissent des aspects cytologiques et

histochimiques extrêmement variés, jusqu'à être amenées à l'état de glycérides.

Dans les préparations colorées par une teinture basique, après dissolution des lipides (Pl. II, 3), la place des grosses enclaves vitellines peu digérées est marquée par un réseau ou un amas d'un résidu retenant énergiquement l'hématoxyline, l'hémalun, la safranine, etc... Il est nécessaire, pour avoir des renseignements plus complets, de poursuivre les investigations à l'aide de colorants vitaux sur des cultures en bon état physiologique, puis d'appliquer divers procédés d'analyse aux cultures vivantes ou fixées, sans que les constituants des enclaves aient été modifiés ou dissous.

La coloration vitale au rouge neutre révèle des images très riches (Pl. XXV, fig. 1 à 7). Les enclaves non digérées encore, — quoique pouvant contenir parfois quelques globules réfringents ou en être entourées, — ne prennent pas le colorant (Pl. XXV, fig. 1); d'autres, même assez volumineuses, se teignent rapidement, d'une façon plus ou moins homogène, en rouge vif intense (1); enfin les boules de graisses restent inchangées. Entre ces trois stades, les constituants du vitellus en digestion affectent des aspects multiples. Sur un fond incolore ou rose pâle, se détachent des boules nombreuses, rapprochées ou espacées, roses ou rouges (Pl. XXV, fig. 2, 3 et 4 à droite). Des enclaves, vraisemblablement de vitellus blanc, même très grosses, ont un fond uni, rose ou rouge pâle, parsemé de sphères inégales, quelquefois de grande taille, allant du rouge framboise au saumon (Pl. XXV, fig. 4 et 5), ce qui indique une notable différence de *pH*. Dans les stades de digestion avancée, des boules réfringentes, résultant du morcellement des amas de vitellus, sont rouges, mais une de leur moitié est fréquemment plus pâle; d'autres ont leur majeure partie incolore et un halo ou un croissant rouge (Pl. XXV, fig. 6). Il en est enfin de non teintées, réfringentes, qui présentent

(1) Le rouge neutre ne colore pas les grains du vitellus frais prélevé *in vivo*; à la longue, il teinte assez faiblement quelques boules réfringentes, homogènes ou garnies de sphérules. Mais, dans le vitellus prélevé au huitième jour de l'incubation, le rouge neutre communique fréquemment aux sphérules et aux boules une teinte rouge qui peut devenir intense.

autour d'elles de petites zones où le rouge neutre s'accumule très rapidement sous l'aspect de granules; ceux-ci s'accroissent et deviennent des vacuoles réniformes dont le bord concave, le plus intensément rouge, est appliqué contre la surface des sphères (Pl. XXV, fig. 7).

Le bleu brillant de crésyl révèle les mêmes stades que le rouge neutre; les tons vont du bleu foncé au bleu pâle ou du violet au violet rouge. Le bleu de méthylène donne des renseignements voisins, en bleu et en violet. Le bleu de Nil décèle des aspects encore comparables. Les enclaves de vitellus jaune, au début de leur digestion, peuvent être légèrement rosées; d'autres sont bleues, ou bleu et rose, ou violettes (Voir aussi p. 445).

Après coloration par l'hématoxyline, ou mieux l'hémalun, puis par le mélange éosine, aurantia et orange, sans dissolution des corps gras, on observe une répartition très diverse des substances basophiles par rapport aux acidophiles; celles-ci peuvent retenir électivement soit l'éosine, soit l'aurantia et l'orange. Des enclaves granuleuses ou homogènes sont bleu violet, ou possèdent un réseau avec des mottes de substance bleu sombre dans un fond faiblement basophile. D'autres sont rouges (soit rouge vif, soit tirant sur le brique, le violet, l'orangé), ou jaunes (de l'orangé au jaune serin). Certaines ont un fond jaune avec un fin granité ou des boules basophiles, ou d'autres brique. Le fond peut rester bleu, avec des sphères incolores et une région centrale jaune; il est aussi verdâtre (par mélange de bleu et de jaune) avec des boules bleues, ou incolore avec des boules brique. On trouve des enclaves à fond brique et à boules basophiles, ou bien à fond non teinté, avec un réseau ou des boules verdâtres ou jaunâtres. Des sphères réfringentes sont aussi jaune verdâtre ou entourées de granules de même ton.

Ces images, traduisant probablement des variations de phases et des condensations de corps inégalement digérés, s'observent par le moyen d'autres techniques. Celle de la safranine et du vert lumière, après fixation courte dans le liquide de FLEMMING, indique une répartition analogue entre les substances basophiles rouges et acidophiles vertes.

Les enclaves de vitellus sont imprégnées par l'argent. Les procédés de BIELSCHOWSKY, de DEL RIO HORTEGA-FOOT, etc., donnent des résultats suffisants, mais seulement dans les zones où le coagulum de plasma n'est pas digéré par le tissu, comme près du bord des cultures. Suivant les stades de la digestion, des substances sont noires ou violet noir, brunes ou à peine teintées. Des enclaves paraissent complètement et intensément imprégnées par l'argent, ou bien on y distingue des grains juxtaposés, avec parfois des boules plus grosses. D'autres ont un fond granité, ou pourvu d'un réseau, et sont parsemées de boules plus ou moins volumineuses imprégnées ou non. Ailleurs, le fond est incolore, avec une masse centrale retenant l'argent, granuleuse ou formée d'un réseau, ou d'un amas de boules, etc... Les sphères très digérées, réfringentes, précipitent l'argent à leur périphérie, en anneau, en liséré, en halo, ou montrent encore un piqueté en réseau, ou enfin ne sont pas modifiées. La variété des images est plus considérable que ne l'indiquent ces quelques exemples. La fuchsine acide et le bleu de MASSON, après application de la méthode de BIELSCHOWSKY, permettent de distinguer des parties électivement argentophiles, rouges, bleues.

C. — *Étude histochimique.*

Quelques catégories de substances sont caractérisées dans les enclaves, lors de la digestion du vitellus, par des procédés ou des réactions histochimiques. La vitesse de la digestion n'est pas constante dans toutes les cultures d'entoblaste, dans un même milieu, ni dans les diverses régions d'une colonie. Les parties d'enclave donnant telle réaction n'ont pas une répartition définie jusqu'à leur transformation complète en glycérides. Elles sont constituées par un complexe lipoprotéique jaune ou blanc, à divers états de dégradation ; il est difficile d'y établir un rapport entre la localisation des corps chimiques et l'affinité pour les teintures basiques ou acides.

Lorsqu'on plonge des cultures vivantes dans l'eau bouillante pendant plusieurs minutes, la substance basophile des enclaves

résiste; la matière colorée par l'aurantia ou l'orange ne persiste que partiellement (elle n'est pas entièrement dissoute par l'action de l'alcool, suivie de celle du toluène ou du benzène) ; l'éosinophilie disparaît en général (il est à remarquer que l'éosine ne teinte pas, ou peu, en rouge, le cytoplasme des cellules des nappes épithéliales lorsque celles-ci ont liquéfié le coagulum de plasma).

Nous étudierons, séparément, autant que possible, les groupes de constituants: ce mode d'exposé est plus clair, mais artificiel, car les composants du complexe sont étroitement liés ; nous ne retiendrons que ceux que l'on peut identifier avec une sécurité suffisante.

a. — Lipides.

Les enclaves de vitellus et les boules de graisses qui en résultent, par digestion, sont colorées en général intensément par le soudan III et l'acide osmique, si elles n'ont pas été dissoutes au préalable par l'alcool et les carbures. Parmi ces corps gras, nous distinguerons : les lipines (lipoides), le cholestérol et les cholestérides, les glycérides.

En lumière polarisée, certaines parties des enclaves en digestion dans les cellules vivantes sont biréfringentes. Leur région périphérique s'illumine le plus vivement, sous forme d'une bande ou d'un liséré continu ou localisé à quelques places, à un segment ; le reste des sphères est parsemé de granules ou de gouttelettes brillantes. Des sphérules, incluses dans les grosses enclaves, ou séparées, présentent une croix de polarisation, tandis que leur pourtour s'illumine parfois en anneau. Les croix noires n'apparaissent pas dans la totalité des grandes enclaves ; elles sont régulières ou incomplètes, elles peuvent être très petites ; il est nécessaire d'effectuer, en définitive, les examens en nicols croisés, à l'objectif à immersion. Les boules de graisses très digérées ne sont pas biréfringentes. Les zones illuminées sont occupées par des substances lipidiques cristallisées, sans qu'il soit possible de spécifier, dès maintenant, leur nature. Les gouttes où apparaît la croix de polarisation sont constituées par des corps à l'état sphéro-

cristallin, qui, dans les conditions de l'examen, sont à une température située entre leur point de fusion et celui d'éclaircissement : il s'agit soit de lipines, soit de cholestérides.

α. Lipines. — La postchromisation (DIETRICH-PARAT, p. 227), puis la coloration, d'une part au soudan III (équivalent de la méthode de CIACCIO), — les substances basophiles étant mises en évidence, en outre, par l'hématoxyline de REGAUD, ou de MINK, ou l'hémalun, — d'autre part, à l'hématoxyline de KULTSCHITZKY, différenciée par le borax-ferricyanure de WEIGERT (équivalent de la méthode de SMITH-DIETRICH), montrent l'évolution des lipines, après dissolution des glycérides.

Le soudan (Pl. XXVI, fig. 2) teinte en rouge-brique foncé, ou en orangé, d'une façon le plus souvent homogène, des enclaves endoplasmiques de grande et de petite taille, d'abord nombreuses, puis de plus en plus rares à mesure que la digestion se poursuit. Les substances basophiles retiennent l'hématoxyline, soit seule, soit en même temps que le soudan.

L'hématoxyline de KULTSCHITZKY décèle des lipines en bleu noir ; son électivité a plus de finesse que celle du soudan. Des enclaves sont colorées uniformément ou offrent une structure : réseau ou boules bleu noir dans une substance brune, enclaves foncées avec centre brun plus ou moins alvéolaire, ou boules avec très peu ou pas de matière bleu noir, etc... Dans les stades de digestion avancée (Pl. XXVI, fig. 3), il peut persister autour des sphères de glycérides, dissoutes par les réactifs, quelques grains ou des portions d'un liséré bleu noir.

Entre, ou au delà des enclaves vitellines proprement dites, l'endoplasme renferme des lipines masquées, plus ou moins abondantes. La postchromisation provoque la lipophanérose. Des granulations nombreuses apparaissent, brique pâle ou le plus souvent jaunes, par le soudan, foncées ou brunes par l'hématoxyline de KULTSCHITZKY. Si le bain de bichromate de potassium est prolongé six et même huit jours, presque tout l'endoplasme est rempli de lipines démasquées.

L'acide osmique à 2 p. 100 communique à des enclaves peu digérées, ou à certaines de leurs parties, un ton bistre clair ou

foncé ; l'alcool à 70° produit un noircissement secondaire net.

Ces lipines sont-elles des phosphatides ; doit-on les considérer comme des lécithines pouvant produire de la choline ?

La réaction iodophile de ROMIEU (fixation au formol neutre à 10 p. 100 dans le liquide de RINGER, lavage à l'eau courante ; élimination du glyco-gène par l'eau tiède ; hydrolyse par l'acide chlorhydrique à 10 p. 100, jusqu'à émission des premières vapeurs ; sans laver : lugol fort, quelques minutes ; lavage rapide à l'eau distillée ; montage dans la glycérine neutre), colore les lipines, suivant le degré de la digestion, en rouge acajou, acajou, acajou pâle. Il s'agit de lécithines (iodocholine instable).

Les enclaves sont hydrolysées sur lamelle par une goutte d'acide chlorhydrique ou par de la potasse. Dans ce dernier cas, on emploie une solution alcoolique à 4 p. 100, à chaud, l'opération étant recommencée trois fois, puis on neutralise avec un peu d'acide acétique à 2 p. 100 (ne pas ajouter d'excès d'acide acétique, cela provoquerait une dissolution des cristaux). Le réactif de FLORENCE fait apparaître, après vingt à trente secondes, des cristaux caractéristiques de periodure de choline, très abondants. Sans hydrolyse préalable, on ne décèle pas de choline libre dans le vitellus en digestion.

§. *Cholestérol, cholestérides et glycérides.* — Par la méthode de ROMIEU (application de celle de LIEBERMANN-BURCHARDT), considérée comme spécifique du cholestérol et de ses esters (déposer sur la culture, même non fixée, une goutte d'acide sulfurique concentré, puis, après quelques secondes, verser de l'anhydride acétique), les enclaves assez peu digérées deviennent violet lilas ou violet rouge, puis virent au verdâtre (certaines au brun verdâtre), assez rapidement, du moins dans les cultures en sérum seul.

Après fixation au formol neutre à 10 p. 100, des cultures de un, deux, trois jours, dans une goutte de sérum pur, sont plongées pendant plusieurs heures dans une solution à 0,5 p. 100 de digitonine dans l'alcool à 50° (adaptation de LISON du procédé de LEULIER, NOËL, REVOL). L'observation en lumière polarisée montre, le plus souvent, de petits amas granulaires

biréfringents, dont les éléments peuvent être orientés en file, disposés soit dans la région centrale des enclaves en digestion, soit vers leur périphérie. On observe parfois l'existence d'un cristal allongé et mince. Dans le soudan III (LEULIER et REVOL), ces cristaux intradeutoplasmiques ne se colorent pas, même à la longue, et conservent leur biréfringence. Ils sont vraisemblablement dus au complexe digitonine-cholestérol (WINDAUS), dont la cristallisation selon la forme aciculaire est gênée par les autres corps en présence.

Des cultures analogues sont traitées directement par le fixateur-réactif de PARAT (acétone : 73 centimètres cubes, formol à 40 p. 100 : 18 centimètres cubes; alcool absolu : 9 centimètres cubes; digitonine : 1 gramme). Les zones cristallines sont de même assez rares, en général, mais il arrive qu'il y ait dans les enclaves des cristaux aciculés, pour la plupart biréfringents, groupés en amas, en rosettes. Ces cristaux sont analogues à ceux que l'on obtient en faisant réagir le mélange de PARAT avec de l'acétone qui a pu dissoudre un peu de cholestérol (le mélange : acétone 73 centimètres cubes, formol 18 centimètres cubes, alcool 9 centimètres cubes, ayant dissous du cholestérol, donne, avec la solution de digitonine à 0,5 p. 100 dans l'alcool à 50 p. 100, des cristaux fins, mais courts, tous n'étant pas biréfringents ; sans cholestérol, il n'y a pas cristallisation). Il semblerait que le réactif de PARAT puisse, dans une certaine mesure, extraire ou déplacer une faible quantité de cholestérol ; s'il en était ainsi — par action prolongée — sa valeur localisatrice ne serait pas parfaitement rigoureuse, mais il constituerait un excellent procédé de détection histochimique de ce corps plus ou moins masqué au sein d'un complexe.

La réaction de CASANOVA-PARAT donne aux enclaves (et non aux noyaux) une teinte brun rose, puis brun verdâtre, enfin bleu verdâtre, indiquant peut-être, à la fois, la présence du cholestérol et du phosphore des lécithines.

[PARAT procédait ainsi : laisser tomber en même temps, avec deux pipettes égales, à chaque extrémité de la préparation à l'état vivant, d'une part, une goutte d'acide sulfurique extra pur POULENC; d'autre part, une de molybdate d'ammonium à 10 p. 100, de façon que les liquides se rejoignent, dans le champ du microscope, sur le matériel à examiner ; après fixation au formol neutre à 10 p. 100, sans lavage, mettre directement le molybdate puis, quelques minutes plus tard, l'acide. (1).]

(1) D'après LISON (1936), la réaction de CASANOVA (emploi d'un mélange d'acide sulfurique concentré et de molybdate d'ammonium donnant naissance

Les enclaves de vitellus en digestion renferment du cholestérol qui reste en grande partie lié ou masqué et, vraisemblablement, des cholestérides.

Après fixation au formol neutre à 10 p. 100, dans le liquide de RINGER, chargé d'acétate de cuivre, puis post-cuprification de quelques jours dans l'acétate de cuivre à saturation et montage direct à la glycérine, les enclaves en digestion sont vertes, en totalité ou en partie ; les plus digérées, vert pâle. Les cultures sont alors lavées puis colorées à l'hématoxyline de WEIGERT et différenciées par le mélange de borax et de ferri-cyanure de potassium (selon FISCHLER) : les parties vertes retiennent l'hématoxyline ; on observe que, parmi les boules de graisses, il en est d'assez nombreuses un peu teintées. La méthode de GRAM (les grains de vitellus, *in ovo*, prennent le Gram, mais se décolorent assez facilement par l'alcool absolu) permet d'observer encore une répartition variée des substances Gram-positives, au cours de la digestion : enclaves violet noir, ou à fond de même teinte, plus ou moins faible, ou incolore, avec des boules ou des zones violet noir ou non colorées, etc... Il en est, enfin, qui restent bleues dans le bleu de Nil. Les enclaves en digestion renferment vraisemblablement des acides gras.

Les boules de graisses incolores et réfringentes semblent, finalement, être constituées surtout par des glycérides : elles sont normalement monoréfringentes en lumière polarisée, sont colorées en rouge brique par le soudan III, en noir plus ou moins intense par l'acide osmique, en rose par le bleu de Nil ; elles ne sont pas insolubilisées par le bichromate de potassium, ni mises en évidence par le rouge neutre, par la réaction iodophile, par celle de ROMIEU pour le cholestérol, ou celles de FISCHLER et de GRAM.

à une teinte rouge passant au bleu) n'est pas spécifique ; elle est due, dans la lécithine, au radical oléique. PARAT travaillait à nouveau à cette réaction, peu avant sa mort ; il attribuait une grande importance à la qualité de l'acide sulfurique ; il considérait qu'une teinte rose-lilas virant au bleu verdâtre révélait le phosphore des lécithines (le phosphore nucléinique ne réagissant pas) et que, dans les mêmes conditions, le cholestérol apparaissait, d'une façon sensible, en rouge brun foncé.

b. — Réactions plasmale et nucléale.

Elles fournissent des résultats intéressants.

Les cultures d'entoblaste dans une goutte pendante de plasma, ou mieux de sérum, sont fixées dans le liquide de SCHAUDINN acétifié (sublimé à saturation dans le liquide de RINGER : 2 volumes ; alcool absolu ou à 96° : 1 volume ; acide acétique : 2 p. 100 ; la faible quantité d'alcool ne dissout pas les enclaves pendant le temps de la fixation), ou par d'autres mélanges non alcooliques (sublimé acétique, ou même Bouin, formol neutre, etc...). Après lavage, à l'eau ordinaire, puis distillée — et, dans le cas de la réaction nucléale, hydrolyse dans l'acide chlorhydrique à 10 p. 100, à la température de 56°-58°, pendant six-dix minutes — les cultures sont traitées à l'obscurité par la fuchsine de SCHIFF (parmi les réactifs proposés, celui de BRESLAU et SCRÉMIN est de préparation facile et contient peu de fuchsine : solution de fuchsine basique à 0,1 p. 100 : 500 centimètres cubes ; bisulfite de sodium à 30 p. 100 : 10 centimètres cubes ; après une heure, ajouter : acide chlorhydrique pur, 5 centimètres cubes), puis rincées dans trois bains, — pendant une minute dans chacun, — de : bisulfite de sodium, 10 centimètres cubes ; acide chlorhydrique, 10 centimètres cubes ; eau distillée, 200 centimètres cubes, enfin colorées, pour contraste, au vert lumière et montées au sirop d'APATHY.

La réaction plasmale (FEULGEN-VOIT, 1924 ; et VERNE, 1928-29), localisée aux enclaves de vitellus en digestion, est généralement intense ; elle ne révèle pas, d'autre part, la chromatine. Plusieurs fixateurs peuvent être utilisés sans qu'il soit même nécessaire d'employer le sublimé ; ils ne font que modifier, dans le cas particulier, la vitesse d'apparition de la teinte violette. Leurs aldéhydes, en effet, comme le remarquent P. GÉRARD (1935), LISON (1936), puis VERNE (1936), ne paraissent pas être suffisamment adsorbées par les cellules, pour résister à un lavage ultérieur et donner une coloration diffuse. Le « démasquage » des composés aldéhydiques des enclaves est effectué à l'optimum par le sublimé dans la solution de RINGER : la réaction est alors intense quelques minutes après l'immersion dans la fuchsine de SCHIFF. Après emploi du liquide de BOUIN, la teinte est déjà visible en deux minutes, nette en cinq à dix, intense en vingt minutes. L'usage du formol neutre à 10 p. 100 ne fait qu'augmenter un

peu ces temps (sur d'autres objets variés, VERNE trouve, après fixation formolée, qu'il faut une longue réoxydation avant que la réaction, qui peut être supprimée, redevienne positive ; sur les enclaves de l'entoblaste vitellin, un lavage relativement peu prolongé à l'eau courante, après traitement au formol, est suffisant pour que la réaction soit satisfaisante ; mais tout dépend, évidemment, de la durée de la fixation). Les mélanges renfermant du bichromate de potassium ne sont pas recommandables et retardent la réaction plasmale, au moins autant, si ce n'est plus, que le bain préalable de formol. Enfin, les enclaves en digestion dans les cellules vivantes, plongées directement dans la fuchsine de SCHIFF, acquièrent aussi une teinte violette, mais avec plus de lenteur que dans toutes les conditions précédentes : en vingt minutes, la réaction est très faible ; en quarante, bien visible ; en une heure, forte.

La réaction de FEULGEN-VOIT, suivie du vert lumière, révèle diversement les enclaves lipidiques, selon leur degré de digestion : les unes sont denses et uniformément violettes ou avec des lacunes peu ou pas colorées ; d'autres sont vertes ; chez d'autres encore, on observe une répartition variable des substances violettes et vertes : fond vert avec réseau ou granité violet, fond piqueté de violet avec des sphères vertes, fond à peine ou pas coloré et masse centrale violette avec un halo vert, etc... Les boules de graisses réfringentes, situées principalement autour de l'amas de vitellus en digestion dans l'endoplasme, sont violettes : leur centre est assez pâle, leur pourtour plus foncé ; enfin, celles périphériques, en général, restent incolores. Dans chaque culture, la réaction est maxima sur les enclaves des cellules voisines du bord épithélial.

La réaction nucléale de FEULGEN-ROSSENBECK (1924), les lipides n'étant pas dissous (spécifions encore qu'il y a bien hydrolyse préalable et trois lavages finals au bisulfite chlorhydrique), est positive sur certaines enclaves, souvent d'une façon intense — et surtout, dans ce cas encore, près du bord épithélial — en même temps que sur la chromatine dans les noyaux. Ce résultat est obtenu constamment, chez toutes les cultures d'entoblaste vitellin effectuées dans de bonnes con-

ditions. Des enclaves sont vertes (vert lumière), parfois avec des lacunes non colorées ; d'autres ont un fond incolore avec des amas ou des grains ou un résidu soit vert, soit violet. Les boules violettes peuvent être assez grosses. Il est des enclaves, en partie vertes, en partie violettes : bordure violette, en halo dégradé du côté du centre vert, etc... On trouve, enfin, des sphères nombreuses dont la périphérie est violette, ainsi, parfois, qu'un réseau central, le reste n'étant pas teinté ; celles qui représentent le produit final de la digestion du vitellus sont incolores.

Dans les enclaves de vitellus en digestion, il existe donc, sous forme de grains, de boules, de réseau ou d'amas, une substance décelée comme la chromatine par la réaction nucléaire. Cette substance paraît moins abondante que celle révélée par la réaction plasmale ; loin d'être détruite par l'hydrolyse, sa coloration paraît même quelquefois renforcée.

Signalons d'autres faits qui seront retenus lors de la discussion (p. 297). Entre les enclaves très digérées, incolores, la trame du réseau cytoplasmique est violette, malgré l'hydrolyse ; les fibres qu'édifient l'entoblaste le sont parfois aussi, lorsqu'elles cheminent sur de grosses enclaves et seulement dans cette partie de leur trajet. Enfin, on remarque dans les noyaux un phénomène qui peut avoir de l'importance et qu'il vaut mieux mentionner à cette place.

Les colorants basiques électifs ne teintent pas le fond des noyaux, qui est acidophile, ou n'y révèlent qu'un granité basophile extrêmement fin ; ce dernier n'est, en général, pas sensiblement plus dense d'un côté que d'un autre ; cependant, la membrane nucléaire est basophile en face de l'amas des enclaves en digestion. En dedans de cette portion de la membrane, au niveau d'une région en croissant mince, le réseau nucléaire est un peu plus teinté par divers colorants (non par la safranine anilinée) et imprégné par l'argent, que dans le reste de son étendue. Dans cette zone localisée, il réduit plus l'acide osmique, ce qui est net après brunissement secondaire par l'alcool ; il retient parfois l'hématoxyline de KULTSCHITZKY, en brun foncé ou violet noirâtre après postchromisation, mais il n'est pas décelé par le soudan (sans ou après postchromisa-

tion) ; il ne l'est qu'assez rarement et sur une faible étendue à la suite de la réaction plasmale. Or, cette partie du noyau, — qui ne contient pas, ou que très peu de chromatine, qui réduit légèrement, sur une petite surface, un sel d'argent et l'acide osmique et semble, le plus souvent, ne pas renfermer de substances « plasmales » directement caractérisables, — est rendue apparente en violet, d'une manière nette et générale, par la réaction de FEULGEN-ROSSENBECK après hydrolyse. On observe alors, en regard des enclaves coalescentes (même, dans certains cas, quand celles-ci sont très digérées et quelque peu distantes du noyau) que la membrane est violette et plus épaisse sur une longueur qui correspond à la largeur de la masse vitelline et qu'elle représente, là, le bord convexe d'un segment nucléaire particulier. Celui-ci est assez large, cette fois, au niveau de sa flèche qui prolonge le grand axe de la masse des enclaves cytoplasmiques ; il peut même s'étendre à plus de la moitié du noyau, quelquefois presque à sa totalité. Il est imprégné d'une substance violette, homogène, ou constitué par des granules violets, d'autant plus nombreux qu'ils sont plus près de la membrane ; par contre, le pôle opposé en est très pauvre ou n'en contient pas. Cette différence entre les deux moitiés du noyau persiste lors de la division amitotique ; elle est manifeste, principalement, chez les cultures pas trop évoluées, en bon état métabolique, avant le quatrième jour, par exemple, dans une goutte de sérum ; elle s'atténue ensuite. Elle est sujette, aussi, à des variations quantitatives chez les différentes colonies, ou chez les cellules d'une même population.

Fixons trois groupes de cultures de la même série, par le sublimé acétique dans le liquide de RINGER et pratiquons, dans les conditions sus-indiquées : *a.* la réaction plasmale après dissolution des lipides ; *b.* la réaction nucléale après dissolution des lipides ; *c.* comme témoin de *b.*, la réaction nucléale sans passage préalable par les alcools, le xylène et les alcools pour revenir à l'eau.

Dans le groupe *a.*, la chromatine n'est pas colorée ; la réaction plasmale des enclaves est négative, sauf chez quelques-unes d'entre elles, rares, ayant résisté à la dissolution ; il

s'agit dans ce cas d'une teinte violette diffuse, assez pâle. Dans les groupes *b* et *c*, la chromatine est violette; alors que, dans *c*, les enclaves sont souvent violettes, en tout ou en partie, comme il a été dit, en *b*, toute la substance violette imprégnant abondamment les enclaves (ou le réseau cytoplasmique interposé entre elles, ou les fibres qui reposent sur elles) a disparu; toutefois, chez plusieurs enclaves d'assez faible taille, retenant le vert lumière, quelques petites boules persistent, bien définies, intensément violettes. Celles-ci ne correspondent pas aux rares sphères du groupe *a*, teintées d'une manière diffuse en violet pâle, mais à des grains, spécialement décelés à la suite de l'hydrolyse. Ces expériences répétées donnent les mêmes résultats.

Portons maintenant notre attention sur le segment nucléaire proche des enclaves, dont on a remarqué le comportement particulier à l'égard de la réaction nucléale. La substance violette révélée intensément dans cette partie du noyau, dans le groupe *c*, a disparu dans la catégorie *b*. Cependant une différence peu importante subsiste entre les deux moitiés du noyau; celle qui fait face aux enclaves est limitée par une membrane parfois encore violette; le réseau chromatique y est plus coloré, peut-être plus épais.

Assurons-nous, enfin, que la recoloration de la fuchsine-acide sulfureux, dans ce segment du noyau, doit être précédée d'une hydrolyse faible. Des cultures de la même série, dans une goutte de sérum, âgées de quarante-six heures, sont traitées, sans dissolution préalable des lipides, les unes par la réaction plasmale, les autres par la nucléale; ces deux procédés sont appliqués, en outre, à chacune des deux parties séparées d'une même colonie. La réaction plasmale ne décèle rien dans le noyau, ou, seulement du côté des enclaves, un croissant violet, très mince, bordant intérieurement la membrane; après traitement par l'acide chlorhydrique à 10 p. 100, pendant six minutes, à la température de 56°, le segment nucléaire en question est fortement violet et fréquemment large.

Après hydrolyse, il existe donc dans le vitellus en cours de digestion une substance assez abondante, donnant une réaction peu différente de celle qu'y révèle, sans hydrolyse, la

fuchsine de SCHIFF; une matière, ayant aussi cette propriété, imprègne même, au voisinage des enclaves, des portions du cytoplasme ou des fibres, ou du noyau; dans ce dernier cas, une hydrolyse préalable est nécessaire pour la mettre en évidence. Il s'agit cependant d'un corps lipidique qui est en grande partie éliminé par les alcools et les carbures. De plus, la dissolution préalable des lipides respecte, dans les enclaves, quelques sphérules électivement et intensément révélées par la réaction nucléale.

Tout semble se passer comme si une substance lipidique, recolorant fortement la fuchsine-acide sulfureux, diffusait des enclaves en digestion et imprégnait le noyau, surtout dans sa région proximale: mais il est nécessaire, cependant, pour la rendre apparente dans cet organite, d'effectuer tout d'abord une hydrolyse faible.

c. — *Glycogène.*

Le carmin de *Best*, après fixation à l'alcool à 80° ou 90° iodé, et coloration secondaire à l'hématoxyline de MINK, indique la présence de zones de condensation ou de précipitation, assez nombreuses, qui pourraient renfermer du glycogène. Des enclaves, de taille moyenne ou grande, sont violet rouge ou rouges, avec de petites sphères incolores ou basophiles; d'autres contiennent un groupement de boules ou d'amas violet rouge. Des grains de la même couleur peuvent exister dans des enclaves de faibles dimensions. Chez les grandes, on compte quelquefois, dans une zone digérée, une quinzaine de petites boules violet rouge, inégales, indépendantes de la substance basophile. Le résidu basophile des enclaves peut être un peu rougeâtre.

La gomme iodée, après fixation dans l'alcool iodé, fournit des résultats moins électifs. Les enclaves brunes sont abondantes et souvent assez uniformément colorées, dans les zones denses où la digestion est peu avancée. Il s'agit probablement d'une réaction iodophile surajoutée.

Des cultures de la même série, dans une goutte de sérum, sont traitées par le lugol: *a.* vivantes, les enclaves de vitellus

sont acajou ; la coloration est d'autant plus faible que la digestion est plus forte ; les glycérides ne sont pas teintés ; *b.* vivantes, mais à la suite d'un traitement de quarante minutes à 37° par de la salive, suivi d'un lavage rapide à l'eau : les enclaves ne sont pas colorées (1) ; *c.* après une fixation au formol neutre à 10 p. 100, lavage d'un jour à l'eau et action de la salive, comme précédemment : la coloration acajou des enclaves persiste dans les zones cellulaires épaisses ; il semble, dans le cas de ce vitellus en digestion, qu'une simple fixation formolée soit suffisante pour immobiliser du glycogène sur d'autres constituants du complexe ; l'action hydrolysante de l'amylase est peut-être retardée de ce fait (toutefois la pénétration est plus lente dans les régions épaisses).

Des essais ont montré que la réaction de H. BAUER est satisfaisante, après fixation dans le liquide de BOUIN des cultures en sérum, mais que l'oxydation du glycogène n'est pas optimale si l'acide chromique utilisé (pendant treize heures) est à 1 p. 100. Des cultures de la même série sont fixées (BOUIN), lavées longuement, plongées dans l'acide chromique à 4 p. 100, lavées cinq minutes à l'eau courante, traitées un quart d'heure par la fuchsine de SCHIFF, rincées trois fois dans le bisulfite chlorhydrique, lavées dix minutes. La réaction n'est pas intense si le bain dans l'acide chromique ne dure qu'une demi-heure ; elle le devient, s'il est prolongé pendant quarante-cinq minutes ; s'il l'est pendant une heure quinze, elle ne s'affaiblit que partiellement. Dans les enclaves en digestion, des boules ou un réseau sont violet rouge foncé ; les glycérides ne sont pas colorés. L'hydrolyse par la salive (quarante-cinq minutes à 37°), avant la fixation (BOUIN), supprime ou atténue fortement la réaction (des enclaves, surtout les grosses, sont encore légèrement violet rouge).

Les enclaves de vitellus en digestion contiennent vraisem-

(1) Il semblerait donc que l'amylase salivaire soit nécessaire pour hydrolyser rapidement le glycogène des enclaves de vitellus dans les cellules de l'entoblaste avasculaire. KOGA (1923) trouve que l'amylase du vitellus est très voisine de celle de la salive, mais elle a une action assez lente, d'après ROGER (1908). « Il est donc probable, écrit NEEDHAM, que l'amylase du vitellus vient directement du sang de la Poule sans changement de concentration. »

blement du glycogène ; celui-ci semble ne disparaître qu'assez lentement.

d. — Protides.

La réaction de MILLON, après fixation à l'alcool absolu seul, ou, ce qui améliore le résultat, additionné de 5 p. 100 d'acide tartrique (ERRERA), ou au formol neutre à 10 p. 100, est effectuée à chaud, ou à froid (MILLON-BENSLEY). Elle décèle dans les enclaves, en brique rose, souvent assez pâle, des boules ou des zones plus ou moins colorées sur un fond peu ou non teinté, etc... Chacune de ces formations a, en général, un ton uniforme. Les enclaves, surtout les plus grosses, réagissent mieux près du centre des cultures ; elles cessent assez vite de le faire, principalement dans l'auréole de croissance, au cours de la digestion du vitellus. Il semble que les protides de la série aromatique, comme la tyrosine, ne persistent pas très longtemps.

Des résultats de même ordre sont fournis par la réaction xanthoprotéique (la coloration jaune due à l'acide nitrique est renforcée et passe à l'orangé par traitement à l'ammoniaque), par celle du biuret (la teinte est violacée, souvent pâle), par celle d'AXENFELD (déposer sur les cultures, même à frais, quelques gouttes d'acide formique à 50 p. 100, puis de chlorure d'or à 1 p. 100 et chauffer quelque temps sur une platine), qui communique aux boules ou à des parties d'enclaves une couleur violet foncé ou pâle (ce qui caractériserait plutôt la guanine).

Par la réaction de ROMIEU à l'acide orthophosphorique à 60° B. (quelques minutes à 56°), on obtient, surtout chez les grosses enclaves, une coloration rosée, pelure d'oignon, faible, même en présence de lévulose, comme si le tryptophane, vraisemblablement, était peu abondant et disparaissait bientôt ou était mal décelé dans le cas particulier.

La réaction de RUHEMANN et ABDERHALDEN, pratiquée avec une solution aqueuse de ninhydrine à 0,2 p. 100, à l'ébullition pendant près d'une minute et demie, colore, dans les enclaves, des α -aminoacides en bleu violet, intense ou

pâle ; mais la localisation n'y est pas précise, par suite de la fusion partielle du complexe.

D'une manière générale, les protides paraissent détruits assez rapidement pendant la digestion du vitellus. Les enclaves blanches réagissent souvent d'une manière plus intense que les jaunes.

Signalons que les lipides qui passent dans le segment du noyau en regard des enclaves (p. 274) sont vraisemblablement liés à des protides : la réaction xanthoprotéique les colore *in situ* en jaune, pas très fortement, mais la différence avec le côté opposé du noyau est nette. Ils ne sont pas décelés électivement par la réaction de MILLON (absence probable de tyrosine).

e. — Dérivés des protides.

α. Groupements sulphydrilés. — Des cultures d'entoblaste vitellin de quatre jours, dans une goutte de plasma coagulé, ou mieux de sérum pur, sont traitées, sans fixation, par une goutte de nitroprussiate de sodium à 2 p. 100 environ (ou à 10 p. 100), à laquelle on mélange, sur lamelle, une goutte de sulfate d'ammoniaque en solution saturée (ou quelques cristaux de ce corps), puis une goutte d'ammoniaque à 50 p. 100.

La réaction est négative, chez les cultures âgées de deux à quatre jours ; elles ne paraissent pas contenir de glutathion à l'état réduit.

Sous l'influence d'une solution de cyanure de potassium à 10 p. 100, pendant quelques minutes, cette même technique donne aux colonies âgées de deux, quatre et cinq jours, une teinte rouge violet souvent intense. Celle-ci est encore caractéristique chez les cultures de sept et même de huit jours. Elles contiennent du glutathion oxydé, qui a été ramené à l'état réduit par le cyanure ; la coloration apparaît dès qu'on verse le nitroprussiate, car les cultures sont alcalines dans l'ensemble ; elle est renforcée par la suite de la réaction.

L'extraction des formes solubles et le démasquage des formes fixes des substances à groupements sulphydrilés sont opérés, sur des cultures rincées au liquide de RINGER, par l'acide trichloracétique à 16 p. 100, pendant moins d'une minute. Après lavage rapide à l'eau distillée, action du nitro-

prussiate de sodium à 10 p. 100, en présence de quelques cristaux de sulfate d'ammoniaque, puis d'une goutte d'ammoniaque à 50 p. 100, on obtient une teinte rouge violet certaine, plus ou moins intense, chez des colonies en sérum pur, âgées de deux, quatre, cinq et six jours. La réaction est encore positive chez des cultures en partie dégénérées, après sept et même douze jours (dans les mêmes conditions, elle est négative chez les fibrocytes issus du cœur). On peut donc caractériser des groupements sulfhydrilés protidiques, dans les colonies d'épithélium vitellin, pendant toute la durée de leur vie dans une goutte de sérum ; rappelons que la croissance cesse le quatrième jour au plus tard, mais que les cellules digèrent leur vitellus.

β. Composés phénoliques. — L'azoréaction est effectuée par copulation du sel de diazonium, obtenu extemporanément par diazotation de la benzidine, en milieu alcalin, sur des cultures au deuxième jour dans une goutte de sérum, fixées au liquide de BOUIN et bien lavées.

En quelques secondes, les enclaves de vitellus en digestion prennent une teinte orangée intense ; la coloration du fond est très faible. Les glycérides ne réagissent pas. Les enclaves contiennent des composés phénoliques qui semblent abondants et qui résistent à la dissolution ultérieure des lipides.

L'indoréaction (cultures au deuxième jour fixées au mélange de BOUIN ou au formol neutre à 10 p. 100, traitées par une solution de diméthylparaphénylènediamine à 1 p. 100, additionnée de quelques gouttes de bichromate de potassium dilué) est aussi positive ; toutefois, les enclaves en digestion ne deviennent qu'assez faiblement vertes, puis bleutées.

La réaction chromaffine (cultures de trois jours, fixées au formol neutre à 10 p. 100 ou au liquide de Helly, puis traitées par le bichromate de potassium à 5 p. 100, ou à saturation, pendant deux jours et lavées) colore les enclaves de vitellus, selon le degré de la digestion, en brun, orangé, orangé pâle. Il s'agit bien d'une vraie réaction chromaffine : l'iodate de potassium à 5 p. 100 (GÉRARD, CORDIER et LISON), après fixation au formol, teinte

les enclaves en jaune brun, mais plus faiblement que le bi-chromate.

Enfin, la réaction argentaffine (cultures de trois jours, fixées au formol neutre à 10 p. 100, lavées deux heures à l'eau courante, puis une heure à l'eau distillée, plongées vingt-quatre heures à l'obscurité dans le liquide de FONTANA, déshydratées et montées) vient corroborer les résultats des trois méthodes précédentes. Les enclaves réduisent l'hydroxyde d'argent ammoniacal sous forme de petites boules noires, à centre quelquefois plus clair, ou de grains, ou d'un granité fin. En général, les grains sont situés principalement du côté profond des sphères vitellines (vers la lamelle). La réduction n'est pas instantanée.

Les enclaves de vitellus en digestion renferment des composés à fonction phénolique (poly- ou aminophénols, ou polyamines en position ortho ou para).

γ. Composés indoliques. — Des cultures au deuxième jour dans une goutte de sérum, fixées au formol neutre à 10 p. 100, sont plongées pendant deux heures dans le mélange de diméthyl-aminobenzaldéhyde (2 grammes), acide chlorhydrique (20 centimètres cubes), alcool absolu (80 centimètres cubes), à la température de 58° (EHRlich).

La région centrale épaisse devient macroscopiquement violacée ; mais cette teinte n'est pas perceptible au microscope sur les enclaves. Cette réaction donnée par les phénols, les amines aromatiques, l'indol, le pyrrol, est donc très faible ; nous avons vu, cependant, que les enclaves en digestion renferment des groupements phénoliques.

La réaction de l'indophénine, spécifique des composés pentagonaux monohétérocycliques, est pratiquée sur des cultures de deux jours, fixées au formol, ou même sur des colonies vivantes. Dans la solution d'isatine dans l'acide sulfurique concentré, les enclaves en digestion sont immédiatement jaunes, puis orangées, rouge orangé, enfin rouge violacé ou bleuté. La couleur caractéristique n'est acquise que progressivement.

La *nitrosaminoréaction* (LISON) est effectuée sur des cultures fixées au formol et traitées, pendant une heure trente à deux heures, par le nitrite de soude à 5 p. 100, acétifié à 5 p. 100, avant l'emploi ; les enclaves en digestion prennent une

teinte jaune ou vert jaune. Après action du phénol à 5 p. 100 dans l'acide sulfurique concentré, la teinte vert jaune n'est pas intense, sauf dans les parties épaisses des colonies, décelant, peut-être, la présence d'un radical pyrrol ou indol. Dans les enclaves des cultures non fixées, le phénol sulfurique transforme rapidement la couleur des dichroïnes vertes en un ton brique ou lilas (probablement à cause du cholestérol).

Enfin le mélange sulfonitrique (*nitroréaction*) communique aux enclaves en digestion une coloration jaune canari pas très intense, qui, si elle n'est pas due seulement aux protéines, révèle l'existence de substances à noyau benzénique (composés indoliques).

Il semble que, dans les enclaves de vitellus en digestion, puissent exister, en faible quantité, des composés indoliques.

f. — Fer.

Après micro-incinération selon POLICARD, les cendres des enclaves de vitellus sont gris rougeâtre, révélant ainsi le fer total.

Le fer ionique à l'état ferrique est décelé (cultures de deux jours, fixées au liquide de BOVIN) par la réaction du bleu de Prusse (PERLS). Les enclaves peu digérées deviennent vert bleuâtre, ou vertes; d'autres sont plus pâles, les glycérides ne sont pas colorés. Le démasquage dans l'acide azotique à 3 p. 100, prolongé pendant une heure, renforce la réaction; quelques enclaves sont nettement bleues, les autres bleu verdâtre (les cultures sont traitées, par exemple, pendant vingt minutes par le mélange extemporané : acide chlorhydrique 2 p. 100; ferrocyanure de potassium, 2 p. 100, selon le procédé de LISON). Dans les mêmes conditions, la solution saturée de ferrocyanure de potassium, agissant pendant vingt minutes sur les cultures, ne communique aux enclaves qu'une teinte très faible, après exposition aux vapeurs d'acide chlorhydrique (LIESGANG); mais le ton bleu vert apparaît, si l'on verse l'acide sur la préparation.

Le fer des enclaves est précipité à l'état ferrique par la 8-hydroxyquinoléine (réaction d'ANDRÉ THOMAS et LAVOL-

LAY), même chez les cultures non fixées (le vitellus de l'œuf de la Poule donne directement une réaction très caractéristique en tube à essais).

Fixation courte (acide trichloracétique à 10 p. 100, ou formol neutre à 10 p. 100 suivi d'un lavage à l'eau ammoniacale, ou mélange de BOVIN puis lavage à l'eau lithinée) ; rinçage à l'eau distillée neutre ; solution de 8-hydroxyquinoléine acétifiée, quelques minutes ; précipitation par l'ammoniaque à 25 p. 100 ; lavage à l'eau distillée neutre et montage dans le même liquide, après coloration des noyaux au carmin de ORTH.

Les enclaves de vitellus sont vert noirâtre, les glycérides inchangés. Cette teinte est plus intense si la réaction — qui est plus sensible que celle du bleu de Prusse et utilise le minimum de réactifs — est précédée d'un démasquage dans l'acide azotique. Au fort grossissement, le deutoplasme paraît brun jaunâtre ou brun verdâtre.

Les enclaves de vitellus en digestion contiennent du fer ionique à l'état ferrique, en partie masqué.

g. — Soufre organique.

Ce métalloïde est démasqué par le procédé de FAURÉ-FRÉMIET et DRAGOIU. Des cultures au deuxième jour sont immergées, un mois, dans une solution de chlorure de cadmium à 3 p. 100, formolée à 10 p. 100 ; mais le précipité jaune de sulfure de cadmium n'est apparent que dans les parties épaisses du tissu. La solution d'acétate de plomb à 5 p. 100, formolée à 10 p. 100 et acétifiée à $pH : 3,4$ donne des résultats plus satisfaisants. Après vingt et un jours, les préparations sont lavées, déshydratées et montées au baume ou, ce qui convient mieux, seulement à la glycérine, sans dissolution des lipides. Des grains brun noir ou noirs existent dans les enclaves en digestion. Certaines cellules sont très riches en sphères chargées de sulfure de plomb ; mais de tels éléments sont assez peu nombreux, comme s'il y avait un stade où le soufre organique était plus facilement libérable, ou en quantité plus importante.

Quelques essais sont effectués, sans résultats d'emblée satisfaisants,

sur des cultures fixées au formol à 10 p. 100 ou au liquide de BOUIN, dans l'espoir de démasquer le phosphore organique, selon la méthode préconisée par LISON (emploi du réactif nitromolybdique de LILIENFELD et MONTI pendant cinq jours, lavage, puis action du ferrocyanure de potassium à 3 p. 100).

h. — Peroxydases. Phénolases.

Des cultures au deuxième et au troisième jour, vivantes ou fixées au formol neutre à 10 p. 100, sont plongées pendant plusieurs minutes dans une solution saturée et acétifiée de benzidine, puis dans l'eau oxygénée à douze volumes, diluée à 1/12^e (réaction de MADELUNG, technique de MARCEL PRENANT). Des enclaves en digestion avancée, souvent déjà transformées en petites boules réfringentes, deviennent bleutées ; la teinte est nette mais peu intense. Les enclaves non digérées ne sont pas colorées.

La solution saturée d' α -naphtol, à laquelle on ajoute 1/50^e de perhydrol à 1 p. 100 (*Naphtolperoxydaseréaction* de LOELE) donne aux enclaves en digestion (fixation au formol neutre à 10 p. 100) une teinte seulement verdâtre ou bleu verdâtre peu intense, même si l'action du réactif est prolongée.

Le leuco-dérivé du Patentblau, recommandé par FAUTREZ, d'après LISON (réaction des *zinc-leucos*) et qui est, en effet, beaucoup plus pratique que celui obtenu avec la fuchsine acide, additionné de 1/10^e d'eau oxygénée à 12 volumes, est recoloré lentement en bleu verdâtre ou jaunâtre assez faible, par des enclaves déjà notablement digérées.

Il semble donc que les enclaves de vitellus, à un stade de la digestion intracellulaire, contiennent des peroxydases en quantité assez faible ; il se peut aussi que les réactions qui les décèlent et qui apparaissent lentement soient gênées par les autres constituants du complexe.

Le mélange *nadi* (α -naphthol à 1 p. 100 potassique-chlorhydrate de diméthyl-para-phénylène-diamine à 1 p. 100 ; *oxydaseréaction* A de SCHULTZE, *M. nadi-oxydaseréaction* d'après GRÄFF) colore par le bleu d'indophénol, en bleu ou bleu violacé, mais assez faiblement, des enclaves notablement digérées, dans les cultures fixées au formol neutre à 10 p. 100.

Enfin, la dilution d' α -naphtol potassique (*phénolréaction*) communique aux enclaves en digestion, fixées au formol neutre à 10 p. 100, une teinte brunâtre ou noirâtre, plus intense dans la région du bord épithélial des colonies.

Les conclusions de la recherche des phénolases sont les mêmes que celles données pour les peroxydases. Ces deux catégories histologiques de ferments oxydants paraissent être en relation étroite dans les enclaves de vitellus en digestion avancée qui réagissent seules.

D. — DISCUSSION SUR LA DIGESTION INTRACELLULAIRE DES ENCLAVES DE VITELLUS.

L'observation des cultures vivantes, puis fixées et colorées, montre que la cellule vitelline digère les enclaves de vitellus jaune et blanc dont est chargé son endoplasme. Le vitellus se sépare en substances basophiles et acidophiles dont la répartition et les rapports réciproques sont très variables. Finalement, de ce complexe lipoprotéique il ne reste que des boules de glycérides plus ou moins nombreuses. Les réactions chimiques et physiques qui aboutissent à cette transformation paraissent extrêmement compliquées ; quelques aspects peuvent en être précisés, tant bien que mal, dans l'état de nos techniques histochimiques, vu la difficulté d'analyser séparément des corps intimement liés. Cette discussion porte sur cinq points différents.

a. *La rotation des enclaves sur elles-mêmes.* — Ce fait curieux a été remarqué grâce au cinématographe. Il doit probablement être attribué, en partie, comme les autres mouvements qui agitent de grosses particules ou des fragments d'enclaves, à des changements de phase survenant au cours de la digestion. Il est plausible, en effet, de supposer, lorsque la périphérie d'une enclave est seule passée à l'état de glycéride, ou est liquéfiée [les sphères de vitellus en digestion sont entourées d'une zone d'hydrolyse sur laquelle nous reviendrons (p. 289)], que la région centrale, soumise à des variations de tension provoquées par les réactions en cours, incitée probablement,

en outre, par les déplacements cytoplasmiques, etc., puisse opérer une rotation dans un sens et ensuite dans un autre. Il semble qu'on doive rapprocher de ce fait les observations des auteurs qui ont noté la rotation alternative de la figure chromatique, lors de la mitose : H.-E. ZIEGLER (1895) chez les œufs en segmentation de Nématodes, surtout légèrement comprimés ; O.-M. OLIVO (1934), chez des cellules d'origine myocardique d'embryon humain, cultivées ; J. COMMANDON, P. DE FONTBRUNE et J. JOLLY (1934) chez des érythroblastes du Triton, filmés entre lame et lamelle (dans un cas, la rotation fut, en six minutes, de 360°). OLIVO, invoque le rôle éventuel des courants cytoplasmiques, — remarqués par ZIEGLER pendant le phénomène en question, — la fluidité du cytoplasme périphérique, et note que les cellules en culture sont pratiquement comprimées, puisqu'elles prennent une disposition lamellaire. Il se peut qu'il y ait, dans ce cas, solation ou même liquéfaction d'une mince couche cytoplasmique entourant le noyau ; celui-ci serait placé dans des conditions comparables à celles imposées aux enclaves de vitellus dont la périphérie est à un état de tension moindre que celui de la partie centrale.

b. *Sur la digestion et la structure des enclaves de vitellus.* — Dans le complexe qui constitue les enclaves des cellules vitellines, des corps ont été mis en évidence, d'une façon plus ou moins nette, selon le stade de la digestion : *des lécithines libérant de la choline par hydrolyse provoquée, du cholestérol et, vraisemblablement, ses esters, des acides gras, des glycérides, du glycogène, des protides et des produits qui en dérivent (groupements sulphydrilés, composés phénoliques, peut-être aussi indoliques), du fer, du soufre organique, enfin des peroxydases et des phénolases soit en quantité faible, soit, plutôt, difficilement décelables. La digestion intense et le plus souvent rapide de ce complexe est effectuée, très vraisemblablement, par des lipases et des protéases.*

La coloration vitale par des teintures basiques permet d'analyser avec facilité les stades de la digestion intracellulaire des enclaves de vitellus jaune et blanc. L'examen des

résultats des techniques histologiques et histochimiques fournit les éléments d'une discussion sur la digestion et aussi sur la structure de ces enclaves. Nous arrivons à des conclusions qui sont différentes de celles de Z. GRODZINSKI.

Pour cet auteur (1930 et 1933), le vitellus considéré est essentiellement constitué par un liquide protéique colloïdal où sont suspendus des granules de graisses ; il ne parle pas de la digestion des enclaves (1930), mais étudie longuement les vacuoles de la cellule vitelline. Dans un travail en préparation, — dont il eut la courtoisie de me communiquer le sommaire (avril 1937) — Z. GRODZINSKI porte son attention sur la digestion des enclaves deutoplasmiques. Il rectifie quelques détails d'interprétation (1933), mais conserve son explication générale de leur structure. Laissant de côté sa description des vacuoles, dont nous reparlerons (p. 382), nous retiendrons, d'après l'auteur, que l'observation prolongée montre qu'une même sphère de vitellus, d'abord bien limitée et renfermant de petits grains de graisses, devient chargée de grosses gouttes grasses, puis que son contour commence à s'effacer. Ces boules de graisses se dispersent dans le cytoplasme, en même temps qu'y est incorporé le liquide colloïdal de l'enclave.

En 1933, j'ai décrit et figuré l'aspect global de la digestion intracellulaire des enclaves vitellines, qui, d'homogènes ou finement granuleuses, se chargent de boules réfringentes, puis sont morcelées en sphères de graisses neutres ; j'ai considéré, dès le début de mes recherches, que cette digestion était un des facteurs les plus importants de l'évolution ultérieure des cultures. Dans la suite, j'ai poursuivi l'analyse histochimique, après avoir précisé les conditions techniques assurant une vie optima aux cultures pures de cellules vitellines ; il convient, en effet, de n'utiliser que des cellules en excellent état métabolique, sous peine de commettre des erreurs d'interprétation. Or, la diversité des stades de digestion des enclaves, dans une même colonie, à un même moment, ainsi que la signification des résultats histochimiques qui viennent d'être rapportés, montrent qu'il ne paraît pas possible de considérer ce vitellus comme étant un liquide seulement protéique où sont suspendues des gouttelettes de graisses. Il semble, — si l'on fait bien la discrimination nécessaire entre les enclaves de vitellus elles-mêmes et les zones d'hydrolyse qui les entourent, — qu'on ait affaire à un com-

plexe lipoprotéique à un état plus ou moins avancé de dégradation. Celui-ci est initialement réparti, mais pour peu de temps, en grains de vitellus qui, juxtaposés ou plus ou moins fusionnés, constituent une enclave ; la structure granulaire est surtout nette dans les jaunes ; dans les blanches, plus homogènes à première vue, il y a en réalité individualisation de sphères d'assez grande taille. Le complexe non digéré ne prend pas le rouge neutre en coloration vitale. La digestion débute d'une façon précoce ; la plupart des grains perdent leur individualité ; la colorabilité par le rouge neutre est la conséquence de l'hydrolyse du vitellus en question. Les images obtenues indiquent que cette hydrolyse peut se poursuivre inégalement, dans le complexe lipoprotéique intergranulaire et dans les granules ou sphères qu'il contient et qui sont à des degrés différents de concentration ionique. Parfois, l'hydrolyse des grains ou sphérules débute avant celle du complexe intergranulaire. Les réactions se poursuivant, les enclaves passent progressivement à l'état de glycérides ; mais la vitesse et l'aspect de cette transformation sont extrêmement variables dans les enclaves d'une même cellule ou les parties d'une seule masse de deutoplasme, selon ses dimensions, les zones des cultures, leur âge, leur activité enzymatique, etc... D'où les deux stades extrêmes, reliés par des intermédiaires variés : sphères lipoprotéiques incluses dans une enclave de glycérides et, inversement, boules de glycérides dans une flaque lipoprotéique plus ou moins digérée. La limite des enclaves reste nettement définie jusqu'au stade final de la séparation en boules de graisses neutres. Il semble, lors de toutes les réactions qui s'effectuent, que des phases ou des constituants du complexe puissent se séparer et se condenser en un endroit des enclaves, par exemple des lipines ou des protéines à la périphérie ou au centre des sphères de glycérides, etc... Mais il ne paraît pas que des lipides soient normalement suspendus dans un colloïde protéique. *Un tel aspect ne traduit pas la structure normale du vitellus, mais un des moments de la digestion intracellulaire de ce complexe*, surtout lorsqu'il appartient à la catégorie blanche. Un colloïde protéique entourant les sphères lipoprotéiques et mis en évidence par coloration vitale

basique, représente principalement, soit dans les enclaves, soit dans le cytoplasme contigu, une zone d'hydrolyse. Les réactions histochimiques convergentes établissent que des sphères lipidiques réfringentes, homogènes, paraissant déjà notablement digérées, mais bien individualisées, contiennent encore une certaine proportion de protides, ainsi que d'autres substances, et retiennent en partie les colorants vitaux. Lorsque la coloration est localisée à la périphérie des enclaves réfringentes, l'image est analogue à celles obtenues, lors de la digestion du vitellus d'autres cellules, par plusieurs auteurs (GRÆPER, VON MÖLLENDORFF, PARAT, HOPE-HIBBARD, YUN KO CHING, etc...) (Voir discussion, p. 382.) Au cours de cette digestion, des constituants du complexe passent dans le protoplasme environnant ; l'endoplasme, par exemple, renferme des lipines masquées, parfois très abondantes.

A la présence de pigment près, les investigations effectuées n'ont pas indiqué de différence qualitative entre les enclaves jaunes et blanches. L'une et l'autre catégorie renferment des substances protidiques et lipidiques basiques et acides, donnant les mêmes réactions histochimiques ; leur différence paraît surtout quantitative, comme cela est bien connu en ce qui concerne les deux sortes de vitellus *in ovo*. Les enclaves blanches donnent mieux les réactions des protéines que les jaunes ; elles sont plus facilement hydrolysables [le vitellus blanc est le plus riche en eau (86 p. 100) et le plus pauvre en graisses ; il contient deux fois plus de protéines (4 p. 100) que de graisses (2 p. 100), alors que les chiffres sont, respectivement, pour le vitellus jaune : 45 p. 100, 15 p. 100, 25 p. 100]. NEEDHAM remarque que le vitellus blanc, par son contenu, ressemble plus au blanc d'œuf qu'au jaune ; il est curieux de constater que l'addition d'ovalbumine au milieu de culture provoque l'augmentation du nombre des enclaves blanches.

Au cours de la digestion, les protides du vitellus sont détruits assez rapidement ; mais le glutathion oxydé et les groupements sulphydrilés protidiques persistent pendant toute la durée des cultures épithéliales (sur les rapports de ce fait avec la croissance, voir p. 374) ; le fer, lié à la vitelline,

le cholestérol sont surtout décelés dans les cultures jeunes ; les lipines, le glycogène ne disparaissent qu'assez lentement. Les produits intermédiaires formés au cours de la digestion paraissent nombreux ; il est intéressant de pouvoir caractériser dans les mêmes formations lipoprotéiques des composés phénoliques, probablement indoliques, du fer, du soufre organique, des diastases, etc... Bien entendu, les résultats chimiques apportés ici ne sont considérés que comme une approximation assez grossière, mais ils pourraient permettre d'entreprendre une analyse histochimique quantitative plus exacte.

c. *Sur la réaction plasmale du vitellus.* — Les cultures pures d'entoblaste vitellin, soit dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon, soit dans une goutte de sérum, constituent un matériel de choix pour l'étude de la réaction plasmale. Les préparations sont obtenues en quelques jours, aussi nombreuses que besoin est. Il convient de remarquer qu'il est possible de suivre directement l'évolution histochimique naturelle des enclaves vitellines au cours de leur digestion.

Depuis 1927, JEAN VERNE s'attache à préciser les conditions techniques et la signification de la réaction de recoloration de la fuchsine acide sulfureux sur certains lipides. Dans ses premières recherches il admet, à la suite des conclusions de FEULGEN et des collaborateurs de celui-ci, que cette réaction caractérise, dans les lipides, des fonctions aldéhydiques. Mais LISON (1933) fait remarquer que des substances aldéhydiques grasses n'existent pas sûrement dans les tissus, que le réactif de SCHIFF n'est pas spécifique des aldéhydes. POL GÉRARD (1935) pense que la réaction décele dans les lipides une fonction oxydante développée secondairement, révélée en outre par la recoloration des leuco-dérivés et par la réaction du bleu d'indophénol ; cette dernière est due en effet, pour LISON, à un peroxyde organique apparaissant lors de l'oxydation des lipides non saturés.

Poursuivant ses recherches, VERNE est amené, lui aussi (1936-1937) à la conclusion que la réaction à la fuchsine de SCHIFF est en rapport avec une transformation des lipides au cours de leur oxydation ; mais il n'y a pas un parallélisme complet entre cette réaction et celle du bleu d'indophénol qui apparaît la première, tend à s'atténuer et devient nulle quand l'oxydation est achevée, tandis que l'autre va en augmentant jus-

qu'à être intense. Pour VERNE, la réaction du bleu d'indophénol est le témoin des phénomènes d'auto-oxydation des lipides ; la réaction à la fuchsine réduite (FEULGEN-VERNE) décèle l'apparition des produits de cette oxydation. On s'en rend compte en provoquant l'oxydation ou en laissant se poursuivre l'auto-oxydation des coupes de tissus dont on étudie les enclaves lipidiques ou, au contraire, en préservant celles-ci contre l'auto-oxydation. Les caroténoïdes, par exemple, protègent les lipides en s'oxydant eux-mêmes (RETOVSKY, 1936) ; or les lipides colorés naturellement ou expérimentalement par les caroténoïdes ne se colorent pas par la fuchsine réduite, mais ils le peuvent si ces corps pigmentés ont été eux-mêmes oxydés. VERNE est amené à distinguer deux catégories principales d'enclaves lipidiques ; il complète ensuite ses résultats, distinguant une série d'états intermédiaires.

Les lipides de la première catégorie ne sont pas colorés par la fuchsine de SCHIFF ; ils réduisent l'acide osmique, se teignent par le soudan, et, en rose, par le bleu de Nil ; donnent la réaction du bleu d'indophénol ; fixent les caroténoïdes : ce sont des graisses neutres, des esters du cholestérol ou des lipides plus complexes, toujours caractérisés par une double liaison due à la présence d'acides gras non saturés. Ceux de la deuxième catégorie donnent seulement la réaction de la fuchsine réduite, à frais ou après fixation par des réactifs contenant des sels de métaux lourds (acide osmique, chlorure d'iridium, de platine, d'or, de mercure) ; ils ne réduisent pas l'acide osmique, ne se teignent pas par le soudan (ce produit ne colore pas les lipides saturés, KAUFMAN et LEHMANN, 1928), le bleu de Nil, le bleu d'indophénol, ne fixent pas les caroténoïdes : ce sont des lipides simples ou complexes qui n'ont pas ou ont perdu leur double liaison (on les observe surtout dans la portion ascendante du tube de Henle, dans le rein du Chien). Les lipides osmio réducteurs subissent, lors de l'oxydation, une transformation portant sur leur double liaison, à laquelle ils doivent leurs propriétés ; ils perdent leurs caractères de corps non saturés et acquièrent ceux de corps gras saturés ; ils sont alors aptes à se colorer par la fuchsine réduite ; parfois, cette dernière propriété persiste seule. Dans certains cas, il semble que l'évolution inverse puisse se produire. Les lipides des deux sortes sont souvent mélangés ou offrent entre eux cinq états intermédiaires : lipides de la première catégorie ne donnant pas la réaction du bleu d'indophénol ; puis la donnant ; puis se teintant en plus par la fuchsine réduite (mélange des deux catégories, l'oxydation se poursuivant) ; enfin, cette dernière propriété persiste seule (l'enclave ne contient plus que des produits d'oxydation) ; en outre, dans le cas de la myéline, il persiste des lipides non saturés, mais ceux-ci ne sont plus le siège d'une auto-oxydation (ils possèdent les caractères de la deuxième catégorie, mais se teintent légèrement par le soudan et réduisent faiblement l'acide osmique).

Il semble qu'il y ait beaucoup de cas à envisager et qu'un

schéma d'ensemble soit actuellement difficile à établir : les enclaves de vitellus des cellules entoblastiques ont, en ce qui concerne la réaction de la fuchsine-acide sulfureux, une évolution particulière due sans doute à leur grande complexité. Il a été précisé que, pour cette réaction, une fixation avec démasquage par le sublimé n'est pas nécessaire, que le formol est peu gênant, enfin que, à frais, la teinte se développe bien, mais plus lentement qu'après fixation par les réactifs utilisés. Il apparaît dans chaque enclave, au cours de la digestion naturelle, une substance diversement répartie, qui diffuse dans le protoplasme alentour et est recolorée intensément et très rapidement par le réactif de SCHIFF. Mais la réaction s'atténue à mesure que le complexe lipoprotéique tend à se transformer en sphères de glycérides ; finalement les boules réfringentes représentant l'état terminal de la digestion du vitellus ne donnent plus la réaction. D'autre part, il y a, dans les cultures, une disposition très nette des enclaves réagissant toutes au maximum, ce sont celles voisines du bord épithélial, région d'activité physiologique intense.

En somme, on trouve seulement un passage progressif et lent des enclaves colorables par la fuchsine réduite à celles qui ne le sont plus : le processus normal est inverse de celui reconnu par VERNE comme étant le plus général sur d'autres lipides ; il se poursuit dans le même sens que celui étudié par L. GUYON au cours de la dégénérescence wallerienne : les enclaves résultant de la myéline ne donnent plus la réaction plasmale.

Il faut remarquer, de plus, que le complexe de lipides des enclaves vitellines est fortement soudanophile et osmioréducteur, alors que colorable intensément en violet par la fuchsine de SCHIFF, même lorsqu'il s'agit de sphères jaunes en digestion dont le pigment n'empêche pas la réaction. En outre, ces propriétés existent encore lorsque la fuchsine réduite ne teinte plus les enclaves (1). Enfin, la réaction du bleu d'indo-

(1) Toutefois, si l'on pratique successivement sur le même objet la réaction plasmale, après fixation au sublimé par exemple, puis la coloration au soudan, on voit que les enclaves devenues fortement violettes ne fixent plus le soudan, au moins d'une façon appréciable, ce qu'elles font énergiquement sans traitement antérieur par la fuchsine de SCHIFF. Les enclaves qui n'ont que peu ou pas réagi au réactif fuchsine-acide sulfureux sont teintées en orangé par le soudan.

phénol n'est qu'assez faiblement positive, mais sur les enclaves notablement digérées et contenant déjà, en grande partie, des glycérides colorables en rose par le bleu de Nil et encore, vraisemblablement, des acides gras non saturés.

Il est probable que l'évolution de la réaction des enclaves de vitellus envers la fuchsine réduite est en rapport, cependant, avec une oxydation. Cette réaction devient maxima à un stade de la digestion ; elle peut être renforcée, quand elle n'est pas forte, lorsqu'on soumet les cultures à une auto-oxydation dans l'eau. Elle est faible et assez retardée, si les enclaves ont fixé un peu de carotène (immersion dans une solution de carotène dans l'alcool à 50 p. 100) ; mais, après un lavage court, la recoloration s'opère assez nettement dans l'eau. Il est possible que la perte de la réaction plasmale corresponde à un stade plus poussé d'oxydation, comme VERNE (1929) l'a remarqué en oxydant artificiellement des préparations (1).

En général, la forte soudanophilie des grosses enclaves est atténuée ou supprimée par la réaction intense avec le liquide de SCHIFF. Les résultats de la coloration des lipides par le soudan, après traitement par la fuchsine réduite, comme la pratique VERNE, entre autres manières (Voir notamment les travaux tout récents de BINET, VERNE et PARROT), paraissent, *sur notre matériel*, très différents de ce qu'ils sont normalement. Cette cause d'erreur est évitée si chacune des réactions est effectuée séparément sur deux parties exactement comparables du même tissu.

(1) Je signalerai brièvement, pensant y consacrer une étude particulière, une réaction curieuse et intéressante. Lorsque les cultures d'entoblaste vitellin ont été traitées par la fuchsine de SCHIFF, les enclaves en digestion sont violettes, les plus digérées ne sont pas teintées. Or, si l'on fait agir pendant quelques secondes (trente au plus) du vert de méthyle à 1 p. 100, acétifié à 1 p. 100, sur de telles cultures, on remarque que des enclaves lipidiques à un certain stade de digestion, — encore teintées en violet ou déjà ne réagissant plus, — ont acquis la propriété qu'elles ne possédaient pas auparavant (quelques globules petits et rares se colorent seuls spontanément et vivement par le vert de méthyle) de fixer immédiatement ce colorant nucléaire aqueux. Leur teinte n'est du reste pas celle du vert de méthyle, mais est plutôt d'un vert bleu vif : il s'agit vraisemblablement d'une réaction. Des enclaves devenues violettes dans la fuchsine réduite, puis décolorées artificiellement, par exemple, par le permanganate de potassium et l'acide oxalique, retiennent secondairement, elles aussi, le vert de méthyle. Un traitement trop court par la fuchsine de SCHIFF pour teindre toutes les enclaves colorables (pendant deux minutes par exemple) suffit à faire apparaître la réaction du vert de méthyle. Une hydrolyse préalable ne modifie pas les résultats ; une postchromisation n'est pas gênante ; l'action de la fuchsine réduite est nécessaire. Des essais ont été poursuivis avec des colorants nombreux ; voici ce qu'on peut conseiller pour effectuer cette réaction *qui paraît caractériser un des stades de l'évolution des lipides* : fixa-

Il paraît nécessaire que le vitellus soit en digestion pour donner le plus intensément la réaction plasmale ; les vitellus de diverses origines, d'autre part, sont loin d'être comparables entre eux.

Dans les ovules de Grenouille et d'Axolotl, les plaquettes vitellines ont une réaction négative (VOSS); chez le Discoglosse, elles en ont une positive pour HOPE-HIBBARD, négative pour J. BRACHET. Au cours de la vitellogenèse chez la Poule, V.-D. et E.-V. MARZA (1934) trouvent que le centre des globules de vitellus donne une réaction positive dans les ovules atteignant 3-6 millimètres de diamètre ; dans les ovules plus grands, la réaction est plus faible sur les globules de vitellus blanc, très faible sur les jaunes. Ajoutons que les cellules épithéliales pulmonaires explantées renferment des enclaves lipidiques colorables par la fuchsine réduite (VERNE, 1932).

Pendant la digestion des enclaves de vitellus par les cellules vitellines, on ne peut donc pas faire de séparation chronologique entre les propriétés de fixer le soudan, de réduire l'acide osmique et de réagir à la fuchsine de SCHIFF; les mêmes enclaves présentent ces trois possibilités, au même moment, jusqu'à leur transformation en glycérides; elles perdent ensuite leur colorabilité par la fuchsine réduite, sans qu'il y ait de stade final faisant preuve seulement de cette particularité. La réaction du bleu d'indophénol, assez faible (elle est peut-être simplement gênée par la nature même du complexe), donnée principalement par les enclaves déjà notablement digérées, apparaît après la réaction plasmale; elle ne la précède sûrement pas.

Toutefois, les résultats de VERNE sont pleinement confirmés en ce qui concerne l'inhibition de la coloration par la fuchsine réduite des enclaves ayant fixé du carotène et qui, sans cela, auraient réagi. *C'est un argument de valeur pour la théorie*

tion au sublimé, au liquide de BOUIN, au formol, etc. ; traitement court dans la fuchsine de SCHIFF (jusqu'à réaction plasmale suffisante) ; trois lavages au bisulfite chlorhydrique (facultatifs) ; lavage à l'eau ; vert de méthyle acétique, trente secondes ; lavage à l'eau ; coloration secondaire de plusieurs minutes au carmin lithiné de ORTH qui ne déplace pas la réaction ; montage sans dissolution des lipides, par exemple à la glycérine ou au sirop d'APATHY. Résultats : les enclaves donnant fortement la réaction plasmale restent violettes ; celles donnant la réaction du vert de méthyle sont vert bleu vif ; les noyaux sont rouges. Les préparations se conservent quelques mois.

qui lie cette réaction à un processus d'oxydation des lipides. Il s'agit peut-être de tout un groupe de substances particulières décelées : plusieurs corps, en effet, provoquent la recoloration du réactif de SCHIFF (indépendamment des actions physiques, comme la lumière solaire, etc...). En tout cas, une fixation courte par les mélanges usuels, ou mieux un faible « démasquage » par un sel comme le sublimé, permet à la réaction de se développer plus aisément qu'à l'état frais. Les substances ou propriétés supposées, qu'il s'agisse de « plasmatogène » (FEULGEN et VOIT), d'aldéhydes ou de produits d'oxydation (VERNE), d'une fonction oxydante (LISON, GÉRARD), peut-être même de corps cétoniques (L. BINET, J. VERNE et J.-L. PARROT, 1937) apparaissent en abondance dans les enclaves des cellules vitellines au cours de leur digestion (1).

d. *Sur la réaction nucléale du vitellus.* — Cette réaction a provoqué une littérature très abondante. On trouvera d'excellents exposés dans les ouvrages de LISON, de J. BRACHET, de V. et E. MARZA (1934 et 1935), etc... On sait, par plusieurs travaux, que la quantité de nucléoprotéines est très faible dans le vitellus de l'œuf de la Poule ; celles-ci ne dépassent pas 2 milligrammes et seraient localisées dans la vésicule blastodermique (Voir NEEDHAM, in *Chemical embryology*). Chez les œufs à développement aquatique, les nucléoprotéines sont accumulées en grande quantité (J. et D. NEEDHAM, etc...) ; mais J. BRACHET (1933) a établi qu'elles ne sont transformées en acide thymonucléique vrai, à partir des acides nucléiques de l'ovule, qu'au cours du développement. Dans les œufs à développement terrestre, chaque particule de l'acide thymonucléique doit être synthétisée complètement. BRACHET trouve la réaction nucléale positive, seulement sur les noyaux dans les ovaires de plusieurs animaux. Mais V.-D. et E.-V. MARZA (1934-1935) montrent que, lors de la vitellogenèse, chez la Poule, les globules de vitellus primordial présentent à leur centre une réaction nucléale faiblement positive, ne correspondant pas à la localisation du vert de méthyle, mais à une zone riche en potassium. Or, les composés alcalins ont le pouvoir, entre autres, de réagir avec la fuchsine-acide sulfureux, ce qui peut parfaitement expliquer le résultat obtenu. Toutefois, au cours de la troisième phase de la

(1) Du vitellus partiellement digéré, provenant des œufs de la Poule au huitième jour d'incubation, on obtient, par l'éther, un extrait lipidique qui se colore presque de suite en violet intense dans la fuchsine réduite, ce que ne font pas le résidu aqueux de l'extraction, ou du vitellus frais sec, ou l'extrait éthéré total de foie de poussins.

vitellogénèse, la réaction des sphérules jaunes est négative ou extrêmement faible ; celle des blanches est faible mais existe sur de nombreux granules qui correspondent, cette fois, à la localisation de la coloration par le vert de méthyle ; de plus, les substances en cause résistent à une extraction prolongée à l'alcool et à l'éther.

La disparition de la réaction à la fuchsine réduite, après hydrolyse, a été invoquée parfois contre l'existence de l'acide thymonucléique, dans certaines formations, par exemple dans le noyau vitellin de BALBIANI. Nous avons trouvé que, sans dissolution des lipides, mais après hydrolyse, les enclaves de vitellus en digestion continuent à être colorées en grande partie par la fuchsine de SCHIFF. Il s'agit des substances lipidiques solubles responsables de la réaction plasmale, dont la majeure portion résiste et même est mieux décelée après une hydrolyse faible, puisque la teinte en est parfois renforcée. Mais, après dissolution des lipides, puis hydrolyse, on observe dans les enclaves quelques sphérules donnant électivement et intensément la réaction nucléale ; elles peuvent très bien correspondre à une partie de celles mises en évidence par les colorants nucléaires. Ces faits conduisent à deux hypothèses : 1^o si l'acide thymonucléique n'est pas en cause, mais un composé alcalin ou une autre substance imprégnant un protide, la réaction nucléale est très nettement en défaut et ne peut être considérée comme spécifique ; 2^o si de l'acide thymonucléique est réellement décelé, il faut admettre que ce corps synthétisé s'est accumulé dans les enclaves des cellules vitellines et en quantité assez notable, ce qui paraît surprenant. Il serait tout de même utile de doser l'acide thymonucléique par voie chimique dans l'entoblaste vitellin pur, d'une part après le prélèvement au quatrième jour, hors du sinus marginal et, d'autre part, après quelques jours de culture.

e. *Sur le passage dans le noyau de substances lipoprotéiques.*

— La substance abondante colorée en violet par le réactif fuchsine-acide sulfureux, dans les enclaves, imprègne alentour des portions de cytoplasme, de fibres et, fréquemment, le segment proximal du noyau dans lequel elle a diffusé. Cette matière présente, dans ce segment du noyau, une particula-

rité intéressante pour la signification de la réaction plasmale : *elle est beaucoup mieux décelée après hydrolyse que sans action de l'acide chlorhydrique*, simulant ainsi la réaction nucléale ; elle est cependant lipidique, puisque dissoute par les solvants des lipides. On est amené à supposer que cette substance contracte peut-être des liaisons lâches dans le noyau ; elle y est encore facilement extractible, mais ne réagit que faiblement d'emblée au réactif de SCHIFF ; elle doit subir une hydrolyse légère. Nous avons vu, de même, que ce constituant des enclaves se colore parfois mieux par la fuchsine réduite après hydrolyse faible. La substance est à l'état de complexe avec une matière protéique dans le segment nucléaire considéré ; elle y donne, en effet, la réaction xanthoprotéique. *Ainsi, il peut passer dans le noyau des substances lipoprotéiques diffusant des enclaves voisines, au cours de la digestion du vitellus.* Ce fait, sur lequel nous reviendrons (p. 518), paraît en rapport avec des phénomènes de la multiplication que nous allons analyser.

L'histophysiologie normale et expérimentale de la cellule vitelline semble être dominée, en grande partie, par la digestion intracellulaire des enclaves vitellines ; les produits de métabolisme intermédiaire, élaborés de la sorte, sont vraisemblablement nombreux et leurs possibilités d'action multiples.

CHAPITRE IV

La multiplication des cellules vitellines.

Lorsqu'on observe des cultures *pures* d'entoblaste vitellin en goutte pendante, fixées et colorées après le deuxième jour de leur développement, on est surpris de ne pas remarquer, en général, de cellules en caryocinèse, dans la nappe épithéliale. L'examen de maintes préparations confirme ce résultat. Si l'on suit pendant plusieurs heures, directement au microscope, ou à l'aide de l'enregistrement cinématographique, l'extension des cultures pures, vivant à 38°, on ne constate pas davantage, à ce stade, de mitose. On en rencontre, mais assez rarement chez la plupart des colonies, au cours de la première phase de leur accroissement.

La prolifération des cellules vitellines se poursuit, cependant, d'une façon intense. On a vu (p. 245) que les cultures acquièrent une taille extraordinaire. Celle-ci ne résulte pas seulement de la disposition qu'adoptent les cellules de l'explant qui glissent, puis se répartissent en membrane épithéliale à la surface du coagulum. La multiplication intervient, en réalité, comme l'indiquent, d'une part, les mesures des aires finales des cultures avec ou sans extrait d'embryon et, d'autre part, les processus cytologiques que nous allons étudier. Des observations nombreuses, minutieusement poursuivies, ne laissent pas de doute sur cette assertion : *l'entoblaste vitellin épithélial, lorsqu'il est pur et digère le vitellus dont il est chargé, cesse, en général assez rapidement, in vitro, d'utiliser la caryocinèse, bien qu'il continue à s'accroître très notablement.*

Un autre fait sollicite vivement l'attention : c'est l'inéga-

lité des noyaux des cellules vitellines, — beaucoup plus considérable et générale que chez les autres épithéliums cultivés, — avec présence de noyaux de très petite taille et de cellules de dimensions notablement inférieures à celles des éléments de la majorité de la colonie. De même, les coupes d'entoblaste vitellin pratiquées dans la paroi de la vésicule ombilicale montrent, que, *in vivo*, les noyaux sont aussi inégaux ; il en existe d'assez nombreux de diamètre réduit.

Comme, d'autre part, les figures habituelles d'amitose ne sont pas très fréquentes, on est conduit à se demander par quel procédé les cellules vitellines se reproduisent et assurent, lorsque les caryocinèses ont cessé, l'extension si remarquable des nappes épithéliales. S'agit-il d'un mode particulier de multiplication cellulaire ?

1. — LA STRUCTURE GÉNÉRALE DES NOYAUX.

Les uns (Pl. IV 1, choisie pour des raisons cytologiques dont il sera fait état) sont de grandes dimensions ; le champ de la préparation est parsemé, en outre, d'une quantité de noyaux plus petits, répartis à côté des gros dans une même cellule, ou isolés dans des cellules de moindre format.

Le gros noyau de la cellule vitelline est arrondi (Pl. XXVI, fig. 2 et 3 ; fig. 9, N), mesure environ 16 μ de diamètre moyen, mais peut atteindre 25 μ . Il paraît gonflé de liquide et se déforme très facilement lorsqu'il est comprimé ou serré par les enclaves de vitellus et de graisses ; il présente des sinuosités, des invaginations assez prononcées ou des lobes. Les techniques de coloration les plus diverses révèlent que ce noyau est constitué en majorité par une substance acidophile, limitée par une mince membrane. Au sein de cette substance se trouvent un ou deux plasmosomes éosinophiles, généralement anguleux qui supportent la chromatine peu abondante (1). Celle-

(1) Il s'agit d'un nucléole plasmatique acidophile, que l'on peut appeler plasmosome, par opposition aux nucléoles nucléiniens, ainsi que le font plusieurs auteurs sur d'autres objets. Il n'a évidemment pas de rapport avec les plasmosomes d'ARNOLD (1895). Les très petites masses chromatiques accolées au plasmosome font songer aux agrégats de granules que A.-CH. HOLLANDE décrit sous le nom de *nucléosomes*. Ce savant, par des techniques impeccables, montre

ci est répartie à leur surface, — plus nettement qu'elle ne l'est d'habitude *in vitro* dans d'autres tissus, — sous forme de grains basophiles arrondis, bien séparés les uns des autres, en nombre variable ; quelques granulations chromatiques sont parsemées dans la substance acidophile. Les petites boules de chromatine deviennent seules vert foncé par l'action post-vitale du vert de méthyle acétique. Après fixation au liquide de FLEMING, puis coloration à la safranine-vert lumière, elles sont intensément rouges, de même que les granulations éparses, alors que les plasmosomes et le reste du noyau sont verts (un aspect voisin, mais qui provient de cellules vitellines transformées, est représenté par la figure 15); la réaction nucléale de FEULGEN-ROSSENBECK (hydrolyse dans l'acide chlorhydrique à 10 p. 100 à la température de 56°-58° pendant six-dix minutes), puis vert lumière, colore les sphérules safraninophiles en violet, montrant qu'elles renferment de l'acide thymonucléique, alors que les plasmosomes sont généralement verts ; le reste du noyau — chez les cellules pauvres en vitellus — est vert ou violet pâle, avec un réseau tirant sur le vert et dans lequel se rencontrent encore quelques grains violets (1). Après des imprégnations argentiques diverses, les grains de chromatine sont noirs, les plasmosomes et le granité du fond bruns; de même, l'acide osmique est réduit sur ces formations, respectivement en bistre foncé et bistre clair. Nous avons noté (p. 275) les variations provoquées dans les noyaux, particulièrement en ce qui concerne la réaction nucléale, par le voisinage des enclaves de vitellus en digestion.

Les petits noyaux sont situés plus fréquemment dans les régions très chargées de vitellus. Ils sont arrondis (Pl. VB, *n*); leur diamètre moyen est de 6 μ environ (4 μ , 3 au minimum) ;

que la structure du noyau en général, quiescent et en division, est beaucoup plus compliquée qu'on n'était accoutumé de croire (Voir son tout récent mémoire, 1937).

(1) J. СТЕПОВЕ (1932) constate que, chez deux espèces d'Hémiptères, la réaction nucléale est négative au niveau du plasmosome, dans le noyau des cellules sexuelles mâles et femelles, au repos comme en prophase. De plus, chez *Nepa cinerea*, dans les cellules sexuelles mâles, après la période synaptique, la chromatine des cinq chromosomes sexuels vient s'accoler à la surface du plasmosome ; puis ces chromosomes sont mis en liberté et le plasmosome disparaît.

ils contiennent de l'acide thymonucléique, comme le montre la réaction nucléale ; les plus petits possèdent seulement quelques granules inégaux de chromatine, irrégulièrement répartis dans la substance acidophile (Pl. VB, 15 et 16) ; lorsqu'ils sont un peu plus développés, la structure habituelle des gros noyaux des cellules vitellines apparaît : la chromatine est condensée sur un ou deux plasmosomes de moindre taille. Il arrive que des petits noyaux, faiblement colorables, n'aient qu'un ou deux granules de chromatine (Pl. VB, 7 *n*, en haut) ; ils sont peut-être voués, dans ce cas, à la dégénérescence.

2. — LA MULTIPLICATION MITOTIQUE.

Au début de mes recherches sur l'épithélium vitellin, j'ai signalé la présence de quelques caryocinèses dans les cultures (*C. R. Assoc. Anat.*, 1933) et écrit : « G. LEVI a observé des stades de l'émigration des cellules entodermo-vitellines, mais il pensait que celles-ci ne se reproduisaient pas, ne les ayant pas suivies au delà du deuxième jour. En réalité, on peut trouver, au stade épithélial, des figures de caryocinèse, mais rares » (*Arch. f. exper. Zellf.*, 1934). Ces premières investigations ont été effectuées sur des cultures de la paroi avasculaire totale de la vésicule ombilicale, qui sont constituées par des cellules ecto-et entoblastiques associées. La possibilité de la caryocinèse, chez la cellule ectoblastique, introduit une cause d'erreur. Depuis cette époque, mes expériences ont porté sur des cultures pures d'épithélium vitellin, séparé de l'ectoblaste. J'ai constaté, par l'observation des cultures pures, dans la deuxième moitié de leur développement en goutte pendante, que les cellules n'utilisent pas, alors, la caryocinèse, mais deux modes d' amitose. Ceux-ci ont été considérés, dans mes autres publications préliminaires écrites en 1935 et 1936, comme étant seuls employés ; je n'ai pas précisé — à tort — qu'il ne s'agissait que de la deuxième phase de l'accroissement des colonies, doutant de mes observations initiales. J'ai cru, en effet, pendant cette période, d'une part, que les mitoses que j'avais remarquées, deux et trois ans auparavant, provenaient de cellules ectoblastiques et, d'autre part, que les procédés de multiplication directe, observés et vérifiés, rendaient compte totalement de la prolifération, *in vitro*, de l'épithélium vitellin (chez d'autres épithéliums la mitose n'intervient pas ou peu au début de l'émigration). Puis, j'ai repris l'étude systématique de la première phase de la croissance, chez les cultures pures ; j'ai vu que les cellules vitellines peuvent effectivement entrer en caryocinèse ; mais ce mode de multiplication est assez peu fréquent, sauf exception, et cesse assez rapidement ; mes premières constatations sont donc exactes.

Les mitoses doivent être recherchées, dans l'épithélium vitellin de quatre jours, pur, cultivé dans une goutte de sérum ou de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon, au début du deuxième jour de la croissance. On les trouve surtout près de l'explant ; elles sont rares, on en compte seulement quelques-unes dans les colonies entières de grande taille, examinées complètement même à l'objectif à immersion ; elles disparaissent le troisième jour, alors que le tissu est en plein développement. Chez plusieurs cultures, les mitoses sont défaut.

Il est intéressant de remarquer que les fragments d'entoblaste vitellin provenant d'un même embryon se comportent de façon analogue, en général, en ce qui concerne la multiplication mitotique.

Préparons, par exemple, au cours d'une seule séance, dans les mêmes conditions (une goutte pendante du même sérum), trois séries séparées de cultures d'entoblaste vitellin pur ; le tissu, pour chaque série, est prélevé à un œuf différent. La fixation est pratiquée trente-deux heures plus tard ; quatre cultures entières, dans les trois groupes, sont analysées, après coloration. On ne trouve pas de mitoses dans les deux premières séries, mais il y en a, au total, de deux à sept, à différents stades, dans chacun des quatre exemplaires de la troisième. Il arrive, chez l'entoblaste de certains œufs, que les mitoses soient moins rares et persistent plus longtemps, jusqu'au troisième jour. Mais, dans tous les cas, elles n'atteignent jamais, et de très loin, la fréquence de celles des autres épithéliums et cessent d'apparaître, alors que la croissance (par multiplication directe) continue.

Les caryocinèses offrent souvent des particularités. A la fin de la prophase, quelques chromosomes allongés, plus ou moins arqués, sont répartis vers la périphérie du noyau (avant la disparition de la membrane) ; le centre de cette couronne est occupé par les autres chromosomes qui sont nombreux et tous très courts ou en grains. A la métaphase, chez les cellules très chargées d'enclaves de vitellus (Pl. VA), le matériel en cinèse est rejeté près de la périphérie du cytoplasme. Des chromosomes peuvent être dans une situation aberrante ;

ils s'attardent non loin de l'extrémité des fibres fusoriales, ou séjournent à un pôle du fuseau. Ils sont épais et assez courts. Chez la cellule représentée, on en compte trente, dont neuf hors de la plaque équatoriale ; ils sont seuls colorés intensément en violet par la réaction nucléale de FEULGEN-ROSSENBECK. On n'a pas observé de mitoses multipolaires. Les anaphases rencontrées ont paru normales.

3. — LA MULTIPLICATION AMITOTIQUE.

Dans les cultures maintenues à 38°, les noyaux observés au microscope ou sur film cinématographique sont doués d'un amiboïsme actif. Le plasmosome, bien visible à l'état vivant, est animé lui-même de mouvements, il change d'aspect, se déplace. Les stades de la multiplication sont suivis chez des noyaux non déformés par les enclaves environnantes.

A. — *La bipartition des noyaux.*

Ne doivent être retenues comme amitoses que les divisions directes, plus ou moins égales, observées du commencement à la fin sur le matériel vivant. Des stades isolés, sur préparations colorées, sont assez rarement démonstratifs.

Un noyau en bissac (fig. 6) a, dans chacune de ses moitiés à peu près égales, un plasmosome assez régulièrement ovale. Au bout de quinze minutes, l'étirement des deux moitiés est plus accentué, chaque plasmosome commence à se déformer, à émettre des lobes. Quinze minutes plus tard, la séparation en deux noyaux *a* et *b*, de taille peu différente, est effectuée ; dans la suite, ils restent tout d'abord l'un contre l'autre. Quarante-cinq minutes après la division, un troisième noyau *c* vient s'accoler à *b*, tandis que *a* et *b* tendent à s'espacer. Il ne faudrait évidemment pas conclure à un partage amitotique de *b* et *c*, lors d'une observation effectuée seulement à ce stade ; or, de telles images d'accolement des noyaux sont fréquentes chez les cellules vitellines. Ensuite, le noyau *c* montre à son tour une division de son plasmosome en deux parties sensible-

ment égales, ce qui pourrait être interprété comme le début d'une autre bipartition.

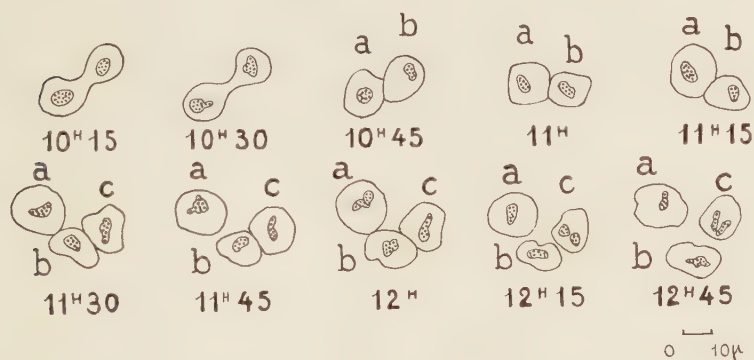


Fig. 6. — Division directe d'un noyau d'une cellule vitelline épithéliale, en deux noyaux *a* et *b*, de taille comparable (endoamitose).

Stades dessinés à la chambre claire, toutes les quinze minutes. Les plasmosomes sont en pointillé. Un troisième noyau *c* venu s'accoler à *b* et simulant une autre amitose. Division en deux du plasmosome de *c*. Entoblaste vitellin de quatre jours (Pl : 1 g., e. e. dilué : traces, 2^e jour).

La figure 9 représente aussi un exemple de l'endoamitose d'un noyau (cellule 6, IV à VI) et de l'accolement de deux autres, un gros et un plus petit (cellule 1, V et VI).

B. — La formation et l'évolution des petits noyaux.

D'où proviennent les petits noyaux de la cellule vitelline ? Il fallait s'efforcer, par l'examen direct du matériel vivant, de suivre leur formation puis de retrouver, sur les préparations colorées, des images cytologiques permettant de contrôler les observations effectuées. Ces investigations ont eu pour but de répondre aux questions suivantes : les petits noyaux sont-ils formés par les gros ? Peuvent-ils augmenter de taille ? Sont-ils à l'origine de cellules nouvelles ?

a. *L'état vivant.* — La naissance des petits noyaux a été suivie à 38°, à l'objectif à immersion, dans des cultures d'entoblaste vitellin faites le plus souvent dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué d'embryon. Nous avons vu que, dans ces conditions, les cultures ont un accroissement très considérable. Il convient de poursuivre les observations non loin de la zone périphérique à partir du deuxième jour.

La formation des petits noyaux est difficile à étudier ; ils naissent sans rythme régulier. On ne prévoit pas, à l'examen d'un gros noyau, qu'il va bientôt en émettre un petit ; d'autre

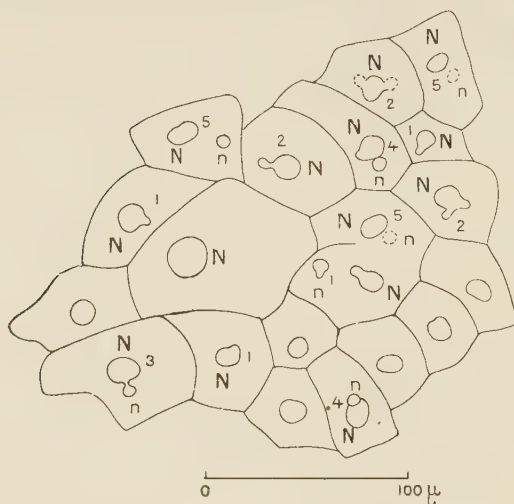


Fig. 7. — Cellules vitellines épithéliales dans un îlot de multiplication (même culture que Pl. II 4, où l'on retrouve cet îlot dans la région médiane de la moitié supérieure).

Dessin de la limite des cytoplasmes et des noyaux, d'après l'agrandissement d'une photographie de la culture vivante. Deux grandes cellules centrales, dont une est en plasmodiérèse, sont entourées de cellules périphériques plus petites. N, gros noyaux, n, petits noyaux formés par N. Stades 1 : formation d'une hernie latérale par N. Stades 2 et 3 : étranglement de la hernie latérale qui aboutit à la séparation de n, soit à côté de N (stade 4), soit chevauchant (stade 4'). Stades 5 : le noyau n a cheminé dans l'endoplasme et s'est éloigné plus ou moins de N.

part, la séparation proprement dite est souvent assez rapide : si une observation continue de plusieurs heures est interrompue pendant un temps court, elle peut ne pas en montrer le moment exact ; cette raison explique aussi que ce stade est le moins fréquent sur les préparations colorées.

Nous allons décrire d'abord un îlot de cellules groupant les étapes principales de la création des petits noyaux ; nous exposerons ensuite

quelques cas dont l'évolution a été longuement suivie.

Dans une lame épithéliale en développement, un îlot de multiplication offre une individualité marquée (fig. 7). Deux grandes cellules vitellines centrales, — dont l'une (à droite) est en plasmodiérèse, — groupent autour d'elles une couronne de cellules de moindres dimensions. Les gros noyaux N sont en train d'en former de petits, n. Aux stades 1, les premiers émettent une hernie latérale, plus ou moins importante, qui est étranglée (stades 2), puis presque séparée (3) ; un petit noyau n en résulte, à côté du gros (4) ; n et N peuvent aussi chevaucher (4') ; enfin aux stades 5, n est éloigné de N,

dans l'endoplasme. Hors de ce groupe de cellules, on trouve des endoamitoses à peu près égales.

La figure 8 représente une cellule vitelline épithéliale constituée par un gros noyau arrondi N, dans lequel on distingue un plasmosome supportant la chromatine, et par un cytoplasme garni d'enclaves de vitellus et de graisses. Elle n'est dessinée en entier qu'au stade 1 (10 h. 45). On

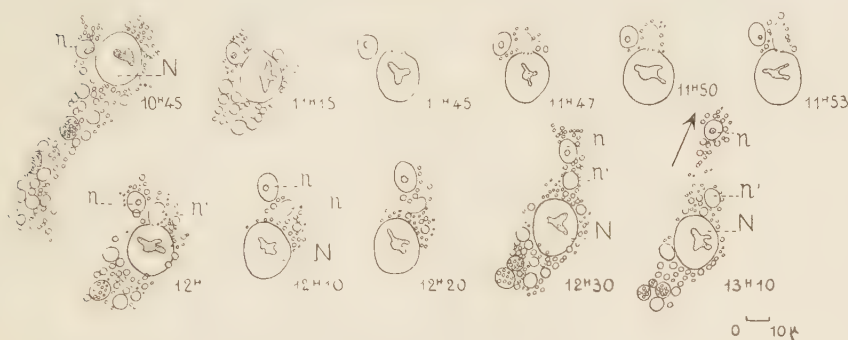


Fig. 8. — Culture pure d'entoblaste vitellin de quatre jours.

Formation d'une petite cellule-fille par une grande cellule vitelline épithéliale. Stades dessinés à l'état vivant, à la chambre claire. La grande cellule n'est figurée en entier qu'au stade 1 (10 h. 45) : enclaves de vitellus et de graisses dans le cytoplasme, noyau arrondi N avec un plasmosome (en pointillé) supportant la chromatine. A côté de N, se trouve un petit noyau, déjà formé, pourvu d'un plasmosome et entouré de quelques petites enclaves vitello-graisseuses orientées. Dans les stades suivants, formation par N d'une hernie latérale qui se coupe en un nouveau petit noyau n' , autour duquel des enclaves s'orientent. Dans les derniers stades, émigration sous forme d'une petite cellule, du noyau n entouré de cytoplasme avec des enclaves (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces, 3^e jour)

distingue en outre, à côté de N, un noyau plus petit n , entouré de quelques grains de vitellus ; nous nous occuperons de n en dernier lieu.

Une hernie à bord mince apparaît à la périphérie de N (11 h. 15) ; une demi-heure après, elle est plus large, quelques grains fins de vitellus sont disposés en ligne à sa base, comme si une dépression existait à ce niveau. Dans les trois stades suivants, espacés de quelques minutes, la hernie subit des modifications rapides : elle s'allonge, son extrémité libre semble s'étaler et devient invisible. Quarante-cinq minutes après son apparition, elle s'arrondit ; les grains de vitellus situés sur sa base dessinent une courbe convexe, puis concave ; il semble que c'est à ce moment (12 heures) qu'elle se sépare sous forme d'un petit noyau n' . Dès lors, la membrane du noyau N recouvre son intégrité, elle est partout bien visible. Au cours de cette évolution, le plasmosome de N subit de nombreuses variations, mais il ne participe pas d'une façon apparente à la création de n' . Pendant les stades suivants, le petit noyau libéré se déforme et tend à s'éloigner de N. Dans les deux stades terminaux, on voit que l'on a affaire à un petit noyau bien individualisé, dans lequel,

ici du moins, on ne distingue pas encore le plasmosome. n' est entouré de fins granules de vitellus dont il paraît provoquer l'orientation nouvelle. D'autre part, le petit noyau n , préexistant au stade 1, commence à s'éloigner de N avec une portion de cytoplasme véhiculant des grains orientés ; l'ensemble constitue une petite cellule. Enfin, deux heures quarante après la séparation de n' , une nouvelle hernie se développe à la périphérie de N.

Dans un autre cas, dessiné stade par stade, mais non figuré, la formation d'un petit noyau arrondi à partir d'un gros dure également environ quarante-cinq minutes.

Une fois libres, de tels petits noyaux manifestent un amiboïsme assez vif. Leur membrane est peu visible s'ils sont situés dans des zones du cytoplasme dépourvues de vitellus ; dans les autres régions, au contraire, leur limite est rendue apparente par la disposition circulaire des enclaves, à moins qu'elle ne soit recouverte et échappe à l'observation.

L'étude des planches VI et VII et de la figure 9 révèle un certain nombre de phénomènes nucléaires dans un îlot de cellules vitellines observé à partir du sixième jour.

Cet îlot, situé à la périphérie d'une colonie, en dehors du bord épithélial, a continué à se développer quelque peu, alors que la croissance de la culture était arrêtée. Cette évolution s'est poursuivie au ralenti, si bien que l'observation d'ensemble en a été moins difficile. Les planches VI et VII sont les photographies des mêmes cellules, prises à des stades différents, au même grossissement. Le dessin figure 9 indique le détail des phénomènes qu'on retrouvera sur les photographies (il sera plus commode d'employer une loupe). Le contour des cellules est indiqué à la limite de l'endoplasme chargé de vitellus et de graisses. Les noyaux de grande taille sont désignés par N, N' et les petits par n , n' , n'' ; les cellules, par un numéro.

La cellule n° 2 est allongée et renferme un noyau près de chacune de ses extrémités ; l'un, N, est gros ; l'autre, n , paraît plus petit ; son contour est souvent masqué par les enclaves. Au stade III, N commence, semble-t-il, à émettre une hernie. Au stade IV, la cellule n° 2 se divise en deux cellules-filles : $2a$ et $2b$; le noyau N de $2b$ en a émis un petit n' qui reste bien visible aux stades V et VI ; il tend à s'éloigner légèrement de N et grossit quelque peu. Au stade VI, le plasmosome de N est visible sur la photographie. A un stade ultérieur, non figuré (VII), n' est certainement plus gros qu'il n'était.

La cellule allongée n° 3 a un gros noyau N et deux petits — l'un n est seul toujours visible — situés, comme c'est fréquent, près du bord de la

cellule; N émet une hernie dont la taille est plus considérable au stade II;



Fig. 9. — Limite de l'endoplasme et des noyaux de l'îlot de cellules photographié Pl. VI et VII.

Dans les stades de I à VIII, les mêmes cellules portent le même numéro (de 1 à 14). N, N' : gros noyaux; n, n', n'' : petits noyaux; V : enclave libre de vitellus; P : prolongement cytoplasmique chargé de vitellus, en voie de séparation (clasmotose). Suivre surtout (explications dans le texte) : la formation de petits noyaux par les gros : cellule 2 (III et IV), cellule 3 (I-III), cellule 4 (IV) où, de plus, N' dégénère; une endoamitose : cellule 6 (IV-VI) ; une plasmodiérèse : cellule 2 (IV) ; l'émission d'enclaves de vitellus : cellule 4 (VI-VII), cellule 8 (II-VI) ; la séparation de prolongements cytoplasmiques chargés de vitellus (P₃, P₅, P₆, P₁₁).

il en résulte (stade III) un petit noyau n' (peut-être déjà en sépara-

tion au stade II), qui s'éloigne du noyau-souche I (stade IV). Une nouvelle hernie apparaît à la périphérie de N (stade V), toujours visible au stade VI, de même que n' . Au stade VII (non figuré), n' a augmenté de taille et s'est rapproché de N ; un autre petit noyau résulte probablement de la deuxième hernie de N.

La cellule n° 4, irrégulièrement quadrilatérale, renferme deux noyaux, N et N', ce dernier légèrement plus petit que N ; ils tendent à se rapprocher. Aux stades II et III, les deux plasmosomes de N' sont apparents. Au stade IV, N émet une hernie qui semble près de se séparer en un petit noyau n ; N' a libéré deux petits noyaux n' et n'' . Au stade V, N' s'est accolé à N et a notablement diminué de taille ; n paraît encore relié à N ; n' est toujours visible, mais il a cheminé d'une façon considérable dans l'endoplasme ; la place de n'' est probablement à gauche de N, elle n'est pas certaine. Au stade VI, n est toujours contre N, auquel est accolé N' ; celui-ci est déformé, flétri, en dégénérescence ; n' n'est pas sûrement identifiable, mais n'' est, cette fois, à nouveau bien visible à la gauche de N. Au stade VII, n s'est séparé de N ; toutefois on ne le distingue pas parmi les enclaves. On aperçoit deux autres petits noyaux que nous désignerons seulement par n , ne pouvant plus les attribuer à l'un ou à l'autre de ceux que nous avons suivis jusqu'alors. N' continue à dégénérer contre N, auquel il demeure accolé. Enfin, la cellule n° 4, qui est maintenant un peu allongée, plutôt ovale, est en train de libérer, près de l'une de ses extrémités, deux sphères constituées par de nombreux grains de vitellus V, dont nous reparlerons. Au stade VIII, le reste de N' paraît avoir disparu ou est masqué ; on aperçoit dans l'endoplasme deux petits noyaux n ; un troisième, n , semble situé à la gauche de N, auquel il paraît accolé.

Enfin, quelques exemples de formation de petits noyaux vont nous être apportés par l'évolution d'une grande cellule vitelline sur laquelle nous aurons l'occasion de revenir en détail, à propos de la genèse des éléments du type histiocyte (fig. 21 et 22). Nous ne nous occuperons, à cette place, que de l'émission de petits noyaux n , par les gros N.

Le plasmosome du noyau N manifeste un amiboïsme assez vif dès le stade 2 ; il prend une forme en bissac. Au stade 5, il paraît se diviser en deux parties inégales. Une hernie se développe à la périphérie de N (10 h. 15) ; elle semble se rétracter dans les minutes suivantes, puis redevient plus prononcée ; une heure plus tard, elle se dessine très nettement ; une extrémité du nucléole plasmatique est près de la région d'implantation herniaire. Au stade 6, les deux plasmosomes de N sont espacés, l'un restant voisin de la base de la hernie qui s'étrangle au stade 7 : un petit noyau n_1 chemine ; nous le retrouvons au stade 8

entre N et n' ; il n'a plus été repéré ensuite parmi les enclaves de vitellus.

Il s'est écoulé une heure quarante-cinq minutes entre le début de la formation de la hernie et la séparation du petit noyau n_1 . Il semble que la période préparatoire ait duré une heure quinze minutes, alors que celle de division proprement dite du petit noyau a été de trente minutes. Avant ces phénomènes, la division probable du nucléole, elle-même succédant à des procès prémonitoires, s'est effectuée en quinze minutes.

Un petit noyau n_2 est issu du gros N' , de la cellule V' (fig. 21). Une hernie apparaît à la périphérie de N' (stade 6); elle se sépare en un petit noyau n_2 , au stade 8; pendant ce temps, le plasmosome de N' a peu varié de forme. Entre le début de la hernie et la séparation de n_2 , il s'est écoulé une heure. Dans la suite, le petit noyau n_2 augmente de taille. Nous verrons ultérieurement qu'il est lui-même le siège d'un mode particulier de multiplication cellulaire, vingt heures plus tard.

Un petit noyau n_3 est engendré par le noyau n de la cellule V (fig. 22). Au stade 16, n émet à sa périphérie un diverticule étroit qui s'élargit (stade 17), s'arrondit, tandis que sa base, implantée sur une région aplatie de n , se resserre (stade 18), puis se coupe (stade 19); le petit noyau n_3 résulte de cette séparation (stade 20). Pendant cette évolution, le plasmosome de n est resté d'allure générale arrondie. n_3 augmente de taille (stade 21), s'éloigne légèrement de n ; un petit plasmosome devient visible, quelque temps, dans sa région centrale (stade 22). Le jour suivant, n_3 n'a plus été identifié de façon certaine au sein des enclaves de vitellus de la cellule V . Entre le début de la hernie du noyau n et la séparation du petit noyau n_3 , il s'est écoulé quarante-cinq minutes à une heure quinze minutes; la période de division proprement dite de n_3 a duré trente à quarante-cinq minutes (probablement trente).

L'accroissement des petits noyaux est variable; il est en général lent. Une observation a montré, cependant, que l'un d'eux a presque pu atteindre, en trois heures, la taille moyenne des autres noyaux des cellules vitellines.

Dans la cellule n° 1 (Pl. VI et VII et figure 9, stade I), un petit noyau n se trouve à côté d'un gros N et s'accroît d'une façon lente (stades I à V). Au stade VI, n est venu s'accoler à N ; ultérieurement (stades VII, non figuré), N et n sont presque de la même taille. Cet accroissement du noyau n s'est effectué en un peu plus d'un jour.

De même, le noyau n_2 de la cellule V' (fig. 21), issu du noyau N' , émigre dans l'endoplasme; huit heures quinze après sa libération, il a grossi sensiblement, quoiqu'il soit encore loin d'atteindre les dimensions de N' ; cependant n_2 , vingt

heures après sa naissance, est le siège d'une multiplication cellulaire que nous aurons l'occasion d'étudier.

Il arrive qu'un des noyaux des cellules vitellines dégénère ; nous avons remarqué, par exemple, que le noyau N' de la cellule 4 (Pl. VI et VII et fig. 9), qui, au début de l'observation, était de grande taille, d'aspect tout à fait normal, est entré spontanément en dégénérescence. La cellule 4, cependant, est restée en bon état et a rejeté deux grosses enclaves de vitellus V.

La pérennité des petits noyaux est établie par l'observation ; mais il est probable que, parmi eux, quelques-uns dégénèrent. Ainsi, celui de la planche VB (n° 7, en haut) ne semble pas viable, il est très faiblement colorable et ne renferme que deux granules de chromatine. D'autre part, des cellules vitellines de taille réduite ont, parfois, un petit noyau pycnotique.

b. *Les préparations cytologiques.* — L'étude cytologique des petits noyaux, sur préparations colorées, apporte quelques détails complémentaires à l'observation poursuivie à l'état vivant. Toute bonne coloration nucléaire révèle les stades recherchés ; mais certains détails sont mieux décelés par l'imprégnation argentique qui, sur ce matériel, doit être poursuivie assez longtemps (la méthode de DEL RIO HORTEGA-FOOT, prolongée à chaud, aboutit à des résultats excellents sur les noyaux des cellules vitellines).

Quelques gros noyaux N, donnant naissance à de petits n, sont groupés à différents stades (Pl. VB). Les trois premiers (1 et 2) émettent chacun une hernie latérale ; dans les trois cas, il y a participation du plasmosome, orienté dans le sens du grand axe de celle-ci. La première, peu développée, est pourvue d'une petite masse de chromatine à son extrémité antérieure, tandis que près de sa base se trouve le nucléole plasmatique. La hernie du deuxième noyau est large, un fragment du plasmosome central s'y engage (comparer sa position, à ces stades, avec celle qu'il occupe figure 21, stade 5 à 11 h. 15 et 11 h. 20). Notons que la substance basophile des petits noyaux en développement est, en général, beaucoup moins abondante que dans ce cas : il s'agit, le plus souvent, d'une ou de quelques masses chromatiques exigües.

Le stade 4 figure l'un d'eux près de se séparer, non plus à la périphérie, mais à la surface d'un gros, en calotte superficielle centrée par une moitié du plasmosome ; ce gros noyau est déformé d'un côté par la pression des enclaves de vitellus. Aux autres stades, les petits noyaux viennent de se séparer des gros, qu'ils chevauchent (3 et 8) ou accompagnent comme des satellites.

L'imprégnation argentique (de 5 à 16) nous montre d'autres détails de leur formation en une calotte superficielle, mécanisme qui s'effectue souvent sur la face des gros noyaux tournée vers la profondeur de la culture. Les stades 9 à 14 indiquent qu'il y a perte de substance chez le noyau-souche N, après séparation de *n*, persistant même lorsque celui-ci s'est déjà éloigné notablement. Celle-là, d'abord apparente sous forme d'une zone plus claire, arrondie, d'un diamètre correspondant à celui du petit noyau (9), est ensuite comblée progressivement, prenant l'aspect de quelques lacunes séparées (10 et 11), ou d'une région dont les bords deviennent irréguliers et s'estompent (12, 13, 14). Quatre petits noyaux, formant deux paires (15 et 16) ont la taille minima observée. Un noyau ne paraît en émettre qu'un seul petit à la fois, mais on en trouve jusqu'à trois autour d'un gros (7) ; leur place et leur taille semblent indiquer qu'ils ont été engendrés à des moments très rapprochés.

La réaction nucléale ne décèle rien dans la zone claire d'où vient d'être issu un petit noyau ; elle caractérise, par contre, l'acide thymonucléique dans le reste du gros noyau et dans le petit.

C. — *La plasmodiérèse.*

Il nous reste à indiquer, par quelques exemples, comment les phénomènes curieux de multiplication nucléaire que nous venons d'analyser sont à l'origine de cellules-filles.

La division ne s'effectue que sur une faible partie du cytoplasme, quand le noyau qu'il renferme est petit.

Reportons-nous à la figure 8. La cellule vitelline (déjà étudiée à d'autres égards, p. 307) montre, à côté de son noyau N (stade 1), un autre de petite taille *n*, pourvu d'un plasmosome et entouré de cytoplasme

chargé de grains de vitellus dont la disposition est orientée : il s'agit d'une énergide.

Dans les stades suivants, pendant que N forme un noyau n' , n s'éloigne progressivement de N, entraînant avec lui le cytoplasme pourvu du vitellus, qui en dépendait ; cet ensemble constitue une jeune cellule qui se sépare de la cellule-mère. Le processus, commencé à 12 heures, est manifeste à 12 h. 30 ; à 13 h. 10, le jeune élément est autonome et émigre.

On observe aussi, parfois la coupure d'une extrémité du cytoplasme d'une cellule-mère dans laquelle un petit noyau avait antérieurement émigré.

La division cytoplasmique est à peu près égale lorsque les deux cellules-filles contiennent des noyaux de diamètre voisin ou qui le deviennent.

La cellule 2 (Pl. VI et VII et fig. 9), en bordure d'un îlot, se divise, par étirement du cytoplasme, en deux cellules sensiblement égales ; l'une d'elles (2a) ne contient initialement qu'un noyau n , paraissant de petite taille et qui s'accroît dans la suite.

Au centre d'une zone de multiplication (fig. 7), une grande cellule polygonale, étroitement enserrée, dont les noyaux se sont divisés (p. 306), est au début de la plasmodière. Le cytoplasme commence à se cliver progressivement en deux parties peu différentes, renfermant chacune un gros et un petit noyau.

La cellule plurinucléée V (fig. 21), de taille importante, se divise en deux autres dans lesquelles se poursuivent des phénomènes particuliers de multiplication que nous verrons en détail. Le noyau N' a gagné une extrémité de V, où un lobe volumineux se dessine (stade 2), puis se resserre progressivement à sa base, en isthme. L'étranglement, déjà considérable au stade 4, aboutit à une coupure au stade 7, séparant de V une assez grande cellule V' , qui contient le noyau N' . V reste pourvue de trois noyaux principaux. V' a dès lors une vie autonome ; cette plasmodière, commencée à 8 h. 30, est terminée à 12 heures. La période de la coupure proprement dite, après rétrécissement déjà considérable, s'est effectuée en deux heures.

On assiste parfois à la libération de plusieurs cellules-filles mononucléées à la périphérie de grandes cellules géantes, dans des cultures normales.

Du pourtour d'un énorme plasmode pourvu de très nombreux noyaux inégaux, dans une culture en flacon, au dixième jour, se séparent plusieurs cellules d'assez petites dimensions ayant chacune un seul noyau. Les unes sont libres, les autres sur le point de l'être, à une des extrémités du

symplasme ; de plus, deux noyaux (Pl. IV, 2, N), bien visibles à l'état vivant, sont vraisemblablement près de provoquer d'autres plasmodiérèses. Des phénomènes tout à fait comparables ont été observés dans l'entoblaste de l'aire vasculaire, où de gros plasmodies libèrent des cellules uninucléées, après coupure d'une portion de leur cytoplasme.

4. — RÉSUMÉ DU MODE DE MULTIPLICATION ET INTERPRÉTATION.

Les faits imposent la conviction que l'entoblaste vitellin épithélial cesse assez vite de proliférer, *in vitro*, par caryocinèse. Les cellules vitellines se reproduisent alors exclusivement par deux modes différents de multiplication directe, déjà utilisés, du reste, avant que ne disparaissent les mitoses : l'amitose proprement dite et un procédé particulier, par formation de petits noyaux qui, avec une partie du cytoplasme, sont à l'origine de cellules-filles.

En réalité, l'amitose est initialement une endoamitose : un noyau se divise par étranglement en deux autres, de taille analogue, renfermant chacun près de la moitié du plasmosome supportant la chromatine. La plasmodiérèse n'est pas consécutive.

L'observation de la naissance des petits noyaux est difficile ; leur rythme d'apparition est irrégulier. Toutefois, les examens patiemment prolongés sur le matériel vivant, confirmés par l'étude cytologique, révèlent qu'ils résultent de la division directe d'une faible partie des gros noyaux de 16 μ , ou plus, sous forme d'une petite hernie latérale ou d'une calotte superficielle qui s'étrangle puis se coupe. Il existe, parfois, dans les nappes épithéliales de croissance des îlots de multiplication bien individualisés, où les étapes de la création des petits noyaux sont toutes groupées. À l'état vivant, on constate que le plasmosome participe à leur formation ou, parfois, qu'il paraît ne pas y concourir. Cependant les préparations colorées montrent qu'une partie de la chromatine — souvent peu importante — passe dans l'ébauche des petits noyaux. Ceux-ci, après leur libération, sont arrondis, mesurent 6 μ de diamètre, sont amiboïdes, puis acquièrent la structure habituelle du noyau de la cellule vitelline ; ils peuvent entrer

en multiplication dans la suite. D'un même gros en résultent, l'un après l'autre, plusieurs petits. Les déformations considérables subies par les gros noyaux des cellules vitellines, du fait de leur amiboïsme prononcé, de leur plasticité et de leur compression par les enclaves de vitellus, ne doivent pas, évidemment, prêter à confusion avec le stade réel de la hernie latérale. La séparation des petits noyaux s'effectue, semble-t-il, en trente minutes environ (dans certains cas la division est très ralentie), mais les phénomènes préparatoires, comme le développement d'une hernie, quelquefois la division du plasmosome, ont une durée qui ne peut être fixée avec précision. De même, l'accroissement de leur taille est assez variable, il est généralement lent : si l'un se développe beaucoup en trois heures, d'autres exigent un temps plus long, un jour ou plus ; mais il en est, enfin, qui semblent devoir conserver leurs dimensions exiguës ou même dégénérer. Les petits noyaux séjournent plus ou moins dans l'endoplasme de la cellule-mère ; ils y cheminent.

La division du cytoplasme, par étirement ou clivage, est à peu près égale lorsque les deux cellules-filles contiennent un ou des noyaux de taille analogue ou qui le deviennent. Parfois, la plasmodiérèse ne se produit pas, d'où l'apparition d'éléments plurinucléés et de plasmodes de très grande taille. Mais la division ne s'effectue que sur une faible portion du cytoplasme quand la cellule-fille ne renferme qu'un petit noyau issu du gros. Dans ce cas, elle est de dimensions notablement inférieures à celles de sa mère.

La multiplication directe joue donc secondairement le plus grand rôle dans l'accroissement normal très considérable de l'épithélium vitellin. L'endoamitose ainsi que le mode de multiplication par petits noyaux, puis par petites cellules, existent simultanément dans une même culture ; leurs caractères sont nettement différents ; le deuxième procédé est le plus fréquent.

La formation des petits noyaux est particulièrement abondante dans les régions des cultures les plus riches en vitellus, près de l'explant et dans les zones denses de la nappe épithéliale. Il semble que les divisions ne deviennent qu'ensuite

des endoamitoses. La multiplication normale par petits noyaux, qui a été individualisée sous le nom de *méroamitose* (1935, voir 4^e partie, p. 501), résulte peut-être de la nature originellement syncytiale de l'entoblaste vitellin et de la présence du vitellus digéré par des ferments.

CHAPITRE V

Les propriétés élaboratrices de la cellule vitelline.

Nous allons étudier deux propriétés élaboratrices des cellules vitellines : la libération d'enclaves de vitellus, qui survient lorsque la multiplication est ralentie (nous établirons ensuite qu'il s'agit d'une sécrétion), et l'édification d'un appareil fibrillaire.

On sait qu'en règle générale la multiplication accélérée ne permet pas aux cellules de manifester d'une façon satisfaisante leurs propriétés élaboratrices ; au contraire, lorsqu'elle est ralentie, les éléments se trouvent placés dans des conditions favorisant l'exercice de leurs fonctions. Il en est ainsi en culture de tissus, lorsqu'on supprime du milieu les facteurs de croissance. La méthode de la multiplication ralentie, dont A. FISCHER et R.-C. PARKER ont montré la grande utilité (1929), a été un moyen d'analyse fécond en ce qui concerne la cellule vitelline.

En réalité, nous avons vu qu'il n'y avait pas de cultures d'entoblaste vitellin, en goutte pendante, dont la croissance soit initialement ralentie d'une façon importante par la suppression de l'extrait d'embryon. L'ensemencement des cultures dans une goutte de plasma coagulé seulement par des traces d'extrait dilué provoque une multiplication d'abord accélérée. Les phénomènes en rapport avec le ralentissement de la croissance ne peuvent être observés que dans les derniers jours de l'évolution des cultures : 3^e, 4^e, etc., en goutte pendante ; 5^e, 6^e, etc., en flacons. Malgré tout, un certain retard précoce de la croissance, dans les cultures en goutte pendante, résulte de l'adjonction au milieu de plasma hétérologue ou d'ovalbumine.

1. — LA LIBÉRATION DU VITELLUS.

Alors que certaines enclaves de vitellus sont digérées, au cours de l'évolution des colonies, on observe que d'autres

augmentent de taille dans les cellules. La figure 10 représente l'accroissement d'une grosse enclave jaune, du deuxième au troisième jour de la culture. Après le dernier stade figuré, les grains de vitellus sont plus ou moins digérés.

D'autre part, on remarque, à partir du troisième ou quatrième jour, que les grains libres sont de plus en plus nombreux. A cette période, cependant, le nombre des cellules



Fig. 10. — Accroissement d'une grosse enclave de vitellus jaune, du deuxième au troisième jour, dans une culture d'entoblaste vitellin de quatre jours (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces).

en dégénérescence n'est pas considérable et ne semble pouvoir expliquer à lui seul la libération d'une quantité de grains jeunes et non digérés, comme le révèle l'étude microscopique. Ceux-ci sont parfois adhérents à la lamelle, en milieu liquide ; ils flottent, en général, lorsque libérés par cytolyse. Un aspect fréquent est photographié planche II, 4. Dans une culture dont les cellules sont déjà très espacées, mais dont le bord est encore parfaitement individualisé, on en aperçoit de très nombreux, nettement en dehors de l'endoplasme, sur les lames hyaloplasmiques qui unissent les cellules entre elles. Un amas de grains est accolé au bord épithélial (près de la région moyenne) ; d'autres, au delà, sont abondants et libres dans le coagulum ; il arrive qu'ils y constituent même une couronne ou un halo dense. On rencontre aussi des masses arrondies de grains au sein de l'épithélium ; des cellules vitellines étroitement serrées peuvent entourer ces formations, beaucoup plus grosses qu'elles-mêmes.

Le vitellus est aussi libéré de l'endoplasme sous forme de grains groupés ou fusionnés. Les planches VI et VII montrent, outre des amas de petits grains de vitellus hors des cellules, plusieurs enclaves arrondies. Sur le dessin (fig. 9, cellule n° 8, II-VI), les stades de l'apparition et de l'émigra-

tion d'une petite enclave ont été indiqués. Celle-ci s'individualise à la limite de l'endoplasme et tend à se détacher (stade III) ; ensuite, elle devient libre ; son diamètre augmente, car les grains de vitellus sont plus espacés et probablement en digestion.

Les enclaves émigrent d'une façon active et ne sont pas seulement repoussées par les cellules voisines ; leur périphérie se déforme ; elles sont amiboïdes dans une certaine mesure. On observe parfois, chez celles libérées en milieu liquide, que les grains de vitellus en digestion sont animés du mouvement brownien. Dans notre film cinématographique, leur déplacement est particulièrement manifeste. Il semble bien que les grosses enclaves isolées aient un substrat cytoplasmique sur lequel sont disposés les grains.

Lorsqu'on a incorporé une goutte d'ovalbumine au plasma, ils sont en général nombreux et leur digestion moins rapide ; de plus, les enclaves blanches, souvent de grande taille, sont prédominantes (Pl. IV, 3).

2. — LA CLASMATOSE VITELLINE.

L'observation poursuivie sur les cellules vivantes (Pl. VI et VII et fig. 9) a révélé que les grosses enclaves libres peuvent provenir de la séparation d'un prolongement cellulaire anucléé, chargé de vitellus. Ce phénomène rappelant la coupure d'un prolongement d'une cellule conjonctive — un clasmatocyte de Batracien par exemple (RANVIER) — est, pour commodité, désigné par les termes de : *clasmatose vitelline* (1).

La cellule 3 est pourvue d'un prolongement cytoplasmique d'abord mince (stade I à III). Celui-ci P_3 devient plus important (stade IV) ; séparé de la cellule 3, il s'en trouve éloigné (stade V) ; sa taille est du reste

(1) On peut observer, dans le vitellus prélevé dans l'œuf au huitième jour de l'incubation et réparti entre lame et lamelle lutées, que de grandes sphères régulières, remplies de sphérules assez grosses, sont d'elles-mêmes légèrement amiboïdes et se déplacent ; les sphérules s'y répartissent différemment. S'il ne s'agit pas d'un phénomène purement physique, lié à la digestion du vitellus, il est vraisemblable que ces formations sont des cellules vitellines libérées et en dégénérescence, ou des fragments de cytoplasme chargé d'enclaves et qui se sont détachés de l'entoblaste de la vésicule ombilicale.

assez considérable. Il est un peu plus globuleux à une de ses extrémités (stade VI).

La cellule 5, primitivement arrondie, puis légèrement allongée, émet un prolongement P_5 (stade IV), qui se sépare (stade V), devient lui-même arrondi (stade VI); il est éloigné de la cellule originelle.

Les cellules 9 et 11 fournissent d'autres exemples. Un prolongement P_9 est individualisé (stade II) et séparé (stade V), sous forme d'une enclave assez volumineuse, ovale, qui change d'orientation (stade VI). Le prolongement P_{11} (stade III) est libéré (stade IV); il est déjà éloigné de la cellule 11, qui s'arrondit, d'allongée qu'elle était auparavant. Le prolongement P_{11} tend à prendre un contour ovale (stade VI), puis l'aspect d'une grosse enclave globuleuse libre (stades VII et VIII, non figurés).

La cellule 12, qui renferme un gros et un petit noyau, s'allonge beaucoup (stade IV). Son extrémité P_{12} s'étrangle (stade V), puis est séparée (stade VI): c'est une enclave libre, P_{12} , globuleuse, reposant sur l'hyaloplasme de la cellule 14; la cellule 12 devient ovale; on y distingue le gros noyau, il semble que le petit y soit encore.

Il arrive aussi que des prolongements chargés de vitellus restent adhérents alors qu'ils paraissent près de se couper (nos 8 et 14, stade IV).

Enfin la cellule 4 (stades VII et VIII), chez laquelle nous avons déjà décrit des phénomènes nucléaires (p. 310), rejette, à une de ses extrémités, deux grosses enclaves à grains de vitellus. Or, il a été signalé que cette formation d'enclaves globuleuses est consécutive à la dégénérescence d'un des deux noyaux principaux (N') de cette cellule.

3. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE.

L'examen des préparations histologiques confirme et complète les observations poursuivies à l'état vivant sur la libération du vitellus.

Des cultures pures d'entoblaste vitellin de quatre jours, dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué d'embryon, fixées au quatrième jour selon DIETRICH-PARAT, sont colorées à l'hématoxyline ferrique de REGAUD, puis au soudan III et montées au sirop d'APATHY, ou traitées par l'hématoxyline de KULTSCHITZKY.

On observe, dans l'endoplasme, près du noyau, la présence de jeunes grains de vitellus, au voisinage d'enclaves en digestion plus ou moins précoce. Parmi ceux-ci, les uns sont arrondis, envacuolés, surtout basophiles; d'autres, colorés à la fois par l'hématoxyline et le soudan; il en est enfin

d'essentiellement soudanophiles, mais qui deviennent bruns dans l'hématoxyline de KULTSCHITZKY (ainsi, du reste, que ceux du vitellus dans l'œuf de la Poule). Il y en a de nombreux hors des cellules.

Des grains analogues apparaissent même dans plusieurs cellules de colonies qui s'accroissent lentement pendant cinq jours dans une goutte de liquide de TYRODE pur et utilisent leurs réserves.

Les cultures sur lamelle, soignées dans mon type de flacon, fixées au huitième jour, puis colorées à l'hématoxyline, montrent, dans les cellules ou libres hors de celles-ci, des grains de vitellus petits, arrondis, très abondants, basophiles, résistant à la dissolution des lipides lorsque les préparations n'ont pas subi la postchromisation. Ce sont donc, très vraisemblablement, des grains jeunes. Si des nappes de multiplication secondaire apparaissent par auto-régénération, par exemple, dans les cultures ralenties, les petites cellules vitellines néoformées ne possèdent que peu de vitellus.

Le chondriome des cellules, pendant ces stades, conserve ses caractères généraux (p. 257). Les chondriocones sont grêles, assez longs et se trouvent surtout dans les zones de cytoplasme dépourvues de grosses enclaves. Dans la région proche du noyau, siège des jeunes grains basophiles, ils ne présentent jamais d'images de vésiculation. Lorsque les cellules épithéliales sont étalées, les jeunes grains peuvent être répartis autour du noyau arrondi. Cette zone périnucléaire est constituée, en outre, par les vacuoles du rouge neutre (Pl. XXV, fig. 1), des chondriocones et des lipines diffuses ; elle représente une zone de GOLGI (p. 386 et Pl. XXVIII). L'accumulation des grosses enclaves à une extrémité de la cellule y provoque un allongement, puis une polarisation plus ou moins marquée. Dans ce cas, la zone où se rencontrent les jeunes grains entoure, par exemple, seulement le tiers du noyau, du côté du pôle le moins chargé d'enclaves.

L'ensemble des phénomènes qui viennent d'être analysés, aussi bien à l'état vivant que sur les préparations colorées, montre qu'après une phase de digestion des grosses enclaves

vitellines existant à l'ensemencement apparaît une période caractérisée par la formation, très probablement, puis par la libération de jeunes grains ayant tous les caractères du vitellus qui se trouvait dans les cellules. Ils sont libérés, isolés, fusionnés ou groupés en grosses enclaves, ou encore entraînés par des prolongements cytoplasmiques qui se séparent (*clasmotose vitelline*).

Les arguments que nous possédons maintenant pourraient permettre de considérer que la cellule vitelline sécrète ses grains de vitellus, puis les excrète ; mais, pour établir cette fonction nouvelle, il semble — à cause de la présence du deutoplasme dans les explants, avant la mise en culture — qu'il faille encore d'autres preuves. Elles seront fournies, ultérieurement, d'une façon expérimentale (p. 365).

4. — L'ÉDIFICATION D'UN SYSTÈME DE FIBRES ET DE FAISCEAUX.

Vers la fin de la croissance de toutes les cultures épithéliales pures d'entoblaste vitellin, on est surpris de constater, même sur le matériel vivant non coloré, outre l'apparition de fibres, celle de gros faisceaux abondants.

A. — *L'architectonie.*

Les observations sont particulièrement démonstratives chez les cultures dans une goutte pendante de plasma, coagulé par des traces d'extrait embryonnaire dilué ; l'incorporation d'ovalbumine au plasma provoque un accroissement du système des fibres.

Les faisceaux, avant que la croissance soit achevée, se développent autour de la colonie, près du bord, lequel progresse encore et s'étale, tandis que la couronne de faisceaux reste en place. Finalement, lorsque la taille limite est atteinte, l'architectonie est toujours la même et suit, avec plus ou moins d'évidence, le schéma ci-après : une couronne de faisceaux principaux fait le tour de la culture à quelque distance du bord épithélial ; d'autres, secondaires, à disposition rayonnée,

cheminent, à partir du groupe principal, d'une part vers le bord, d'autre part vers le centre de la colonie (fig. 11 et Pl. IV, 4).

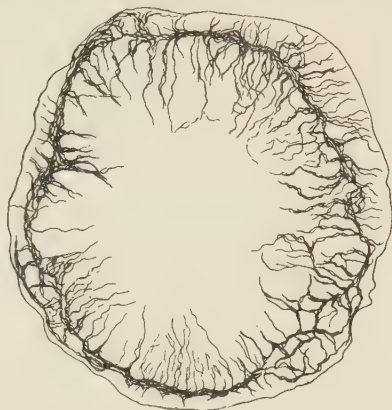


Fig. 11. — Orientation dirigée du système des faisceaux d'une culture d'entoblaste vitellin pur de quatre jours.

Un groupe de faisceaux principaux fait le tour de la colonie, non loin du bord épithélial. D'autres, secondaires, rayonnent du groupe principal, d'une part vers le bord, d'autre part vers la région centrale de la culture. (Même préparation que Pl. IV, 4.)

Les faisceaux et les fibres ne sont pas en rapport avec d'autres existant dans l'explant; ils prennent origine *de novo* dans la nappe de croissance, particulièrement dans sa région périphérique. En effet, lorsque l'étalement est achevé rapidement, la zone centrale des cultures est dépourvue de faisceaux ou en est très pauvre; si cette dernière est restée épaisse, ils y sont assez nombreux, de même que dans toutes les parties non étalées.

Les grosses enclaves de vitellus sont parfois déformées en ovales allongés, lorsqu'elles sont serrées entre les faisceaux de la couronne principale (Pl. IV, 3).

B. — Étude microscopique.

Les faisceaux sont éosinophiles, même après surcoloration des cultures à l'hémalum. Parmi les techniques, celle de MALLORY-HEIDENHAIN (azan) fournit des résultats particulièrement démonstratifs (Pl. XXVII). Les fibres longues, plus ou moins sinueuses, sont colorées en bleu (de même dans un trichrome, par le bleu MASSON); les fascicules et les faisceaux épais sont bleu vif. On distingue en outre, sur les cellules, des fibres fines ainsi que des fibrilles teintées en rouge par l'azo-carmin. Certaines fibres prennent à la fois le rouge et le bleu et deviennent violettes; il en est qui ont une partie rouge, puis une autre de même diamètre, bleue. Les rouges peuvent être anastomosées; fibres et faisceaux se raccordent

fréquemment à leurs extrémités, surtout au voisinage de la couronne principale ; ils dessinent, dans les limites de l'orientation générale qui leur est imposée par la colonie, un réseau à très larges mailles (Pl. IV, 4 et fig. 11).

Les faisceaux les plus évolués sont fort longs, épais, non anastomosés, agrémentés de sinuosités.

Les zones de raccords des faisceaux sont élargies, minces, constituées par une substance d'un bleu assez pâle, tirant sur le violet et qui n'est pas un reste de coagulum de fibrine, celui-ci ayant été digéré complètement par les cellules vitellines ; on y voit seulement des granulations éparses ou des fibrilles courtes, bleues, dont la disposition n'est pas encore bien ordonnée. Ces régions sont incluses elles-mêmes dans des flaques ou des coulées de cette substance bleutée, répandue sur l'épithélium ; elle est alors moins dense, légèrement granuleuse ou précipitée sur les structures sous-jacentes. Les fibrilles rouges y sont rarement enchâssées.

Tout cet appareil fibreux est vu, dans les préparations, sur la nappe épithéliale ; en position réelle, dans les cultures vivantes, il est situé entre épithélium et lamelle. Il se projette sur n'importe quelle partie des cellules, noyau y compris ; il est certain que l'épithélium vitellin est la cause de l'édification des fibres qui apparaissent hors des cellules, souvent dans une substance visible.

Cette propriété élaboratrice se manifeste encore en milieu liquide, même si l'on supprime tout apport de fibrine. Dans une petite goutte de sérum ou seulement d'extrait embryonnaire dilué à 25-30 p. 100, le système existe dès le deuxième jour de croissance de l'épithélium, mais il ne devient pas aussi important qu'en plasma. Il arrive qu'il reste seul adhérent à la lamelle, lorsque les cellules en liquéfaction se détachent ou sont décollées au cours des manipulations ; on dirait d'une dentelle délicate qui peut être colorée et montée. Un fait remarquable est le développement des fibres et même des faisceaux dans les colonies épithéliales poussant dans une goutte de liquide de TYRODE pur. Au cinquième jour, dans ces conditions, après fixation puis coloration à l'azan, on observe des fibres nombreuses, très grêles en général, rouges

et surtout violettes ; d'autres, bleues. Il arrive, dans certaines régions, lorsque l'épithélium est resté un peu épais (deux ou trois couches de cellules serrées), qu'il y ait édification de très beaux faisceaux bleus, parfois assez larges et longs. Cependant, en général, l'appareil fibrillaire est encore moins abondant qu'en sérum ; il ne peut être élaboré qu'avec les seules substances produites par les cellules.

Les fibres et faisceaux gardent aussi leurs caractères généraux dans les cultures où l'on a incorporé de l'ovalbumine ; ils sont seulement beaucoup plus développés ; la masse de substance où s'édifient les fibres devient elle-même bien plus considérable ; elle constitue des bandes assez larges où chaque faisceau est enrobé.

La substance extracellulaire est particulièrement bien mise en évidence par un artifice technique. Des cultures d'épithélium vitellin dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué sont fixées, le cinquième jour, dans le mélange suivant : formol neutralisé, 10 centimètres cubes ; acide trichloracétique, 0^{er},75 ; nitrate d'urane, 1 gramme ; liquide de RINGER, jusqu'à 100 centimètres cubes ; enfin, sublimé à saturation dans le liquide de RINGER, 1 p. 100. L'augmentation de la quantité d'acide trichloracétique, par rapport à celle préconisée dans la formule proposée comme optima (Cf. *Technique*) provoque un gonflement des structures. Les plus fines fibrilles sont visibles ; elles sont soit parallèles, soit réticulées. La substance où se constituent les fibres est rendue complètement apparente, elle forme de longues flaques à bord irrégulier, parfois perforées par protéolyse dans la région des enclaves de vitellus en digestion qu'elles recouvrent. Les coulées de substance engainant les faisceaux ont une limite régulière ou dentelée. Il existe des plages où la matière est étalée en une nappe extrêmement mince, d'autres où elle est répartie en petites lamelles irrégulières, à expansions plus ou moins arrondies, comme si une couche analogue à une membrane basale s'était rompue au moment de la fixation.

Le système fibrillaire est imprégné par l'argent ; mais les résultats des techniques diverses sont différents selon que le coagulum de plasma est ou n'est pas liquéfié. Dans les zones où le coagulum est digéré, comme c'est le cas en fin de croissance, l'imprégnation argentique est faible, quoique l'épithélium soit intact ; si le plasma est préservé, à la périphérie des cultures par exemple, la précipitation de l'argent est satisfai-

sante (il en est de même en ce qui concerne l'imprégnation des enclaves de vitellus, p. 266). Après fixation au formol neutre à 10 p. 100 dans le liquide de RINGER, puis élimination de ce corps par l'eau ammoniacale et oxydation par le permanganate de potassium, la méthode de BIELSCHOWSKY, ou la modification de MARESCH imprègne l'appareil fibrillaire parfois irrégulièrement. Les résultats les meilleurs sont obtenus grâce à la technique de DEL RIO HORTEGA-FOOT (prolongée un jour à 37°), surtout après fixation au liquide de BOUIN, suivie d'un lavage au carbonate de lithium. Des fibres et les fibrilles sont imprégnées d'une façon homogène, mais pas très intense, dans les nappes épithéliales sans plasma (Pl. IV 1), alors que les noyaux ont une teinte vigoureuse brune ou noire ; les gros faisceaux sont, le plus souvent, brun clair ou ne sont pas colorés ; leurs zones de raccord et les coulées de substance élaboratrice ne sont pas révélées, ou faiblement, mais on y distingue des fibres noires. Les procédés de mise en évidence du collagène (azan ou fuchsine acide-bleu MASSON), appliqués après les imprégnations argentiques, surcolorent les fibres et les faisceaux en bleu, alors qu'un certain nombre de fibres et les fibrilles restent noires. Enfin, ces dernières sont imprégnées par l'argent dans la technique de DEL RIO HORTEGA pour les fibrilles épidermiques (adjonction de 1 gramme de pyridine par centimètre cube de solution de carbonate d'argent, à 52°).

Les faisceaux ne sont pas digérés par une solution de trypsine à 0,3 p. 100 dans la soude caustique, à 0,2 p. 100 dans le liquide de RINGER à 38°, après fixation à l'alcool, par exemple, suivie d'un lavage de plusieurs heures à l'eau courante, alors que la digestion des cellules est assez rapide. Mais la digestion s'effectue, avec plus de difficulté que celle des cellules, dans la pepsine à 0,3 et mieux à 0,5 p. 100, dans l'acide chlorhydrique à 0,2 p. 100. Les faisceaux entoblastiques résistent aux acides et aux alcalis dilués ; les plus gros subissent un très léger gonflement uniforme dans l'acide acétique étendu à 1/1 000 ou à 1/500, sans présenter d'anneaux ou spirales de HENLE ; ils donnent la réaction xanthoprotéique, surtout après renforcement par l'ammoniaque. Ils ne doivent pas contenir de tyrosine, car la réaction de MILLON paraît négative. Certains sont biréfringents en lumière polarisée, même après imprégnation argentique ; la plupart ne le sont pas ; ces différences dépendent probablement de l'état de tension et de la quantité de substance amorphe interposée.

L'action de l'eau bouillante fournit des résultats intéressants. Les expériences ont été effectuées grâce à mon flacon à lamelle amovible. Sept grandes cultures pures en flacon, au 8^e jour, adhérant à leur lamelle, débarrassées du plasma coagulé, sont plongées, plusieurs minutes, dans de l'eau distillée bouillant dans une coupelle de porcelaine. Après concentration, l'eau devient un peu visqueuse. Ensuite, les cultures sont fixées au formol puis colorées par l'hémalum-éosine ou par le trichrome de MASSON. Les fibres, les fascicules sont conservés ; mais les gros faisceaux sont plus ou moins altérés ; ils sont gonflés, colorés d'une façon homogène et dense par le bleu d'aniline par exemple, ou présentent des lacunes, des zones diffuses à peine teintées, ou bien se répandent en flaques ou coulées de substance bleue. Après chauffage direct entre lame et lamelle, sous le microscope, seule la substance des gros faisceaux fond et s'étale ; toutefois, dans ces conditions, la rétraction paraît insignifiante ou nulle.

C. — Discussion sur le système de fibres et de faisceaux et interprétation.

Nous sommes amenés à constater (1935) l'édification d'un système complexe de fibres et de faisceaux dans les cultures épithéliales d'entoblaste vitellin. La pureté des colonies est établie ; les techniciens le vérifieront aisément ; on peut affirmer que l'origine des fibres est entoblastique. Nous allons chercher d'abord si nous pouvons avoir une opinion sur leur nature ; nous aborderons ensuite quelques problèmes plus généraux.

a. *Sur la nature des fibres et des faisceaux.* — Leurs caractères permettent facilement de les distinguer de la fibrine plus ou moins modifiée, de la « fibrine canalisée » de WEIGERT ou *hyaline*, qui constitue les fibres synaptiques de RANVIER (NAGEOTTE, 1916). Nous ne nous y attarderons pas.

Il ne paraît pas, non plus, qu'il y ait difficulté à considérer les fibrilles et les fibres colorées en rouge par l'azocarmin, non décelées par les teintures électives du collagène, comme analogues à la catégorie du *réticulum* de MALL, à laquelle sont homologuées en général, maintenant, les fibres argyrophiles de réticuline (selon SIEGFRIED) du conjonctif ou des parenchymes d'organes. Leur argyrophilie est certaine ; lorsqu'elle est peu intense, cela tient aux conditions de milieu,

comme, principalement, la liquéfaction du plasma recouvrant l'épithélium. Ces fibres sont plus ou moins anastomosées ; elles ne constituent pas en général une sorte de grillage serré, vraisemblablement par suite de leur situation : elles ne sont jamais enfouies, le plus souvent la nappe épithéliale n'a qu'une couche de cellules et le coagulum de plasma est digéré ; mais en flacon ou en milieu dense à l'ovalbumine, en goutte pendante, un réseau assez large se constitue. L'indépendance relative des fibrilles est constatée plusieurs fois, notamment par G. LEVI (1931) ; MOMIGLIANO-LEVI remarque qu'elles sont en général isolées dans les couches superficielles et disposées en réseau dans la profondeur. D'autre part, dans la boule d'œdème de RANVIER, la réticuline constitue un réseau en continuité avec celui à larges mailles des faisceaux collagènes, car ceux-ci se ramifient (NAGEOTTE et GUYON, 1930).

Toutefois, la difficulté de l'interprétation porte sur la nature des grosses fibres et des faisceaux et pose, une fois de plus, la question si difficile de la parenté de la réticuline et de la matière collagène. Remarquons que l'existence de fibres violettes ou partiellement rouges et bleues, de même diamètre (dans la technique de l'azan), constitue un bon argument pour considérer qu'il y a passage des structures argyrophiles (ou teintées en rouge par l'azocarmin) aux fibres et aux faisceaux abondants qui se colorent comme le collagène. Mais ces dernières formations sont-elles d'emblée collagènes ?

Plusieurs propriétés semblent, en effet, rapprocher les faisceaux entoblastiques de la substance collagène plutôt que des formations de réticuline : forme, grande taille, abondance, disposition, affinité très marquée pour le bleu d'aniline acide dans les techniques électives, argentophilie beaucoup plus faible que celle des fibrilles, parfois inexistante, digestion par la pepsine (quoique lente), résistance à la trypsine (cependant, l'indication fournie fréquemment, depuis MALL, que la réticuline résiste aussi à la digestion peptique est aléatoire pour certains auteurs). Par contre, les gros faisceaux ne s'enflent que très peu dans l'acide acétique dilué, uniformément, sans spirale de HENLE ; mais les nombreuses

sortes de collagène se gonflent plus ou moins par l'action des acides. L'absence de tyrosine est principalement un caractère de la réticuline ; toutefois, il appartient aussi au collagène. L'eau distillée dans laquelle ont bouilli des cultures d'épithélium vitellin, riches en faisceaux, devient plus visqueuse ; d'une part, la faible quantité de matériel utilisable et la présence d'un peu de vitellus dans les cellules n'autorisent pas à tirer parti de cette constatation ; d'autre part, on sait que tous les collagènes ne possèdent pas, au même degré, la propriété de donner de la gélatine par coction. Il faut tenir compte du fait qu'une substance fond plus ou moins dans les faisceaux entoblastiques les plus longs et épais, après ébullition assez courte ; leur trame persiste cependant et garde ses affinités tinctoriales, tandis que les fascicules et les grosses fibres restent inaltérés. Les faisceaux évolués ne peuvent donc pas être seulement constitués par de la réticuline.

FOOT (1928) indique qu'après extraction par l'eau bouillante une charpente colorable existe encore dans le tissu conjonctif. Il considère que la trame fibreuse et fibrillaire est imprégnée par une substance fuchsinophile, soluble dans l'eau bouillante et que le réticulum contient, en plus, une substance argyrophile soluble dans les alcalis. Toutefois, NAGEOTTE et GUYON (1930) sont amenés à nier cette dernière matière ; suivant la durée de l'ébullition — il suffit de cinq minutes pour la rate — les fibres de réticuline se contractent, se gonflent, se segmentent.

Sans doute, il n'y a pas de critère pour différencier la réticuline d'avec le collagène qui ait, en soi, une valeur absolue ; des caractères sont communs aux deux formations (la biréfringence, par exemple), ou sont prédominants chez l'une ou chez l'autre ; FOOT, par exemple, n'attribue pas grande importance au phosphore décelable dans la réticuline. Il résulte de plusieurs travaux qu'il est des cas où les fibres argentophiles sont mises en évidence par les techniques réservées au collagène, ou que des faisceaux collagènes typiques s'imprègnent bien par l'argent. Les propriétés physiques des structures jouent un grand rôle dans la précipitation de ce métal ; il peut ne pas être justifié, comme le remarque PETERFI (1937), d'identifier la réticuline au précollagène en se basant seulement sur l'argentophilie, qu'elle partage avec d'autres structures fibrillaires fines.

En outre, les fibres collagènes semblent pouvoir se former directement (PLENK, 1927, l'admet), ou apparaître chez l'embryon avant que ne se constitue le stade réticulaire [SNESSAREW, 1932 ; K. Bauer, (1934 c. f. p. 548)].

Réticuline et collagène offrent des différences, mais sont matières très voisines. Les fibres réticulaires ne sont pas simplement des fibres colla-

gènes séparées (MALLORY et PARKER, 1927). D'après FOOT (1928), elles peuvent représenter du « collagène oxydé, hydrolysé, ou du collagène avec une chaîne latérale en plus ou en moins, ou un isomère du collagène » ; il arrive que la réticuline soit hydrolysée en collagène par la soude. MAC KINNEY (1930) est aussi d'avis que les deux catégories de fibres diffèrent non seulement dans l'ordre physique, mais vraisemblablement chimique. NAGEOTTE et GUYON (1930) ont des raisons de croire que, dans un même tissu (le tissu aréolaire par exemple), la réticuline ne diffère pas du collagène ; cependant, la première substance n'est pas identique partout ; la deuxième n'est pas uniforme dans toute l'étendue du réseau conjonctif et pourrait consister en molécules différant entre elles par le sel métallique neutre qu'elles contiennent, leurs proportions variant d'un organe à l'autre, ce qui se produirait aussi pour l'albumine. Entre les diverses formes de tissu collagène, il y a des différences d'ordre physique si grandes qu'il est possible de supposer qu'elles sont liées à des variations chimiques. HERINGA (1933), HERINGA et HOOFT (1934) considèrent les fibres réticulaires comme étant, plus que les collagènes, en rapport fonctionnel étroit avec les cellules (elles sont en tout cas immédiatement au contact des cellules vitellines) ; leur argyrophilie traduirait une participation à l'assimilation ; elle ne dépend pas seulement de l'âge de la substance fibreuse, mais de l'influence du milieu ; du collagène pourrait être amené à nouveau à s'imprégner davantage par l'argent.

L'opinion la plus souvent acceptée est que la fibre de réticuline — plutôt qu'elle ne constitue un collagène immature — peut se transformer en fibre collagène. Cette transformation est établie par plusieurs recherches, comme celles de LAGUESSE, NAGEOTTE, ALFEJEW, FOOT, HERINGA (pour qui le phénomène est réversible) et de pathologistes (quoique ceux-ci ne soient pas tous d'accord). Elle a été suivie ou admise dans les cultures de tissus (MAXIMOW, 1928-1929 ; MAC KINNEY, 1930 ; CHLOPIN, 1931 ; MOMIGLIANO-LEVI, 1930-1932 ; VON MÖLLENDORFF, 1932 ; DOLJANSKI et ROULET, 1933 ; RUMJANTZEW et SUNTZOWA, 1935 ; SUNTZOWA, 1935 ; A. LITVAC, 1937 ; LEVI-MONTALCINI et SACERDOTE, 1937, MAXIMOW observe cette évolution après vingt-cinq jours (thymus) quarante à cinquante jours (leucocytes) ; MAC KINNEY, après cinq jours (ganglion lymphatique) ; le fibroblaste est la cellule prédominante pendant que s'accomplit ce phénomène.

Les fibres de l'épithélium vitellin appartiennent au groupe des édifices de réticuline ; elles ont, toutefois, des caractéristiques particulières. Il est probable que leur nature est encore peu modifiée alors qu'elles deviennent — assez rapidement — de grosses fibres ou des faisceaux à peine argyrophiles, fortement colorables par le bleu d'aniline (dans une note préliminaire : *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 118, 1430, j'ai considéré que ces

formations étaient collagènes, dès ce stade ; cependant elles résistent encore complètement à l'action de la chaleur). *Mais les faisceaux évolués, épais et très longs, acquièrent d'autres propriétés : après le quatrième jour en goutte pendante ou le septième jour en flacon, ils semblent faire partie, plus ou moins complètement, de la catégorie des substances collagènes.* C'est alors, comme nous le verrons, que les cellules vitellines se modifient d'une façon profonde (1^{re} partie, 2^e section).

b. *Sur l'origine et le développement des fibres et des faisceaux.*
— Il n'est pas dans notre sujet de discuter, en détail, de la littérature particulièrement riche sur l'origine de la matière intercellulaire : théories exoplasmique, de la sécrétion, de la formation indépendante ; mais nous devons esquisser le plan d'une comparaison entre les aspects généraux de son élaboration, puis de sa différenciation et de sa répartition *in vitro*, dans l'entoblaste vitellin et dans le tissu conjonctif.

Une substance est assez rarement visible autour des fibrilles et des fibres argentophiles (rouges par l'azocarmin) qui se différencient sur les cellules ; rien n'autorise, au cours de leur développement, à considérer ces structures comme de provenance endocellulaire. Mais, alors que le coagulum plasmatique a disparu, par suite du fort pouvoir fibrinolytique de l'épithélium, des fibres nombreuses sont aussi édifiées au sein d'une matière extracellulaire qui se constitue dans la culture. C'est une lame peu dense, teintée assez faiblement par le bleu d'aniline, répartie en flaques, — surtout dans les zones de raccord des faisceaux entre eux, — ou en coulées. Il ne semble pas qu'il y ait deux variétés dans le mode d'apparition des fibres, mais que ces différences dépendent seulement de la quantité de substance élaborée *in situ* ; lorsqu'il y en a beaucoup, elles retiennent précocement les colorants électifs du collagène.

Si l'on considère que la substance fondamentale est un protoplasme vivant plus ou moins modifié, on ne pourra établir de rapprochement entre elle et celle des cultures d'épithélium vitellin. Si, par contre, elle est interprétée comme un produit non préexistant, mais qui continue d'être élaboré avec les matériaux du milieu, grâce à l'activité sécrétoire des cellules, il

paraîtra légitime d'appliquer l'expression de substance fondamentale à la matière intercellulaire où se différencient les fibres dans les cultures d'entoblaste, comme dans celles d'autres tissus. Les résultats de nos expériences incitent à accepter cette dernière interprétation; ils fournissent quelques données, peut-être suggestives, sur le mode de formation d'une substance fondamentale. Le matériel employé est très favorable parce qu'il y a, en même temps, édification de fibres et de faisceaux abondants et digestion de la fibrine.

La substance fondamentale conjonctive a paru inexistante chez des souches très anciennes, ou dans certains tissus, ou dans des conditions particulières (OLIVO, MOMIGLIANO-LEVI, BAUER), il est, probable qu'elle n'est que raréfiée et tout entière utilisée au fur et à mesure de son élaboration, à la construction des fibres. C'est le cas, semble-t-il, dans les zones d'entoblaste où les fibres argyrophiles sont peu nombreuses des cultures sur le cytoplasme; cependant, ailleurs, surtout dans les plages où la culture est dense ou épaisse, la substance fondamentale, bien que le coagulum de plasma ait disparu, est abondante, non imprégnée par l'argent, ou à peine, mais colorée légèrement par le bleu d'aniline.

La substance fondamentale de l'entoblaste extra-embryonnaire est le résultat de l'action des cellules sur le milieu de culture ou sur les matériaux provenant de leurs propres réserves.

La fibrine sert indirectement à son élaboration, mais n'est pas le seul corps utilisable. Pour plusieurs auteurs, une modification de cette matière est le plus souvent en cause dans le tissu conjonctif. Cependant, NAGEOTTE lui-même a pris soin de spécifier que la fibrine « n'est pas, en effet, la seule substance albuminoïde qui puisse se transformer en collagène; il est probable que beaucoup de ces substances, sinon toutes, sont capables de subir cette évolution lorsqu'elles viennent à être touchées par le ferment ou le réactif appropriés, quel que soit le territoire — intra ou extra-protoplasmique — où la rencontre s'opère » (1922, p. 47). L'appareil fibreux entoblastique se développe, même si l'épithélium vitellin est cultivé dans un milieu uniquement liquide, dépourvu de fibrine, comme de l'extrait d'embryon dilué de 25 à 30 p. 100 dans le liquide

de TYRODE ; il est toutefois moins abondant. Ce résultat a déjà été obtenu expérimentalement, en ce qui concerne les cultures de tissu conjonctif [M. R. LEWIS, 1917 (il s'agissait probablement de tonofibrilles, d'après plusieurs auteurs), GROSSFELD, 1932 ; MOMIGLIANO-LEVI, 1932 ; OLIVO, 1933 (extrait embryonnaire non dilué) ; DOIJANSKI et ROULET, 1933 ; ODIETTE, 1933 ; PARKER, 1936 ; LEVI-MONTALCINI et SACERDOTE, 1937)] ; de nombreux chercheurs pensent que la fibrine n'est pas indispensable. La démonstration en est donnée enfin par l'élaboration de fibres dans les cultures en liquide de TYRODE pur, comme l'établissent les recherches de A. LITVAC, 1937, pour le tissu conjonctif, et les miennes pour le tissu épithélial.

D'après MAXIMOW (1928-1929), les fibres proviennent de la précipitation ou de la cristallisation de quelques substances solubles dans le milieu. Il admet, ainsi que BLOOM (1929), CHLOPIN (1931) la formation d'une matière interstitielle amorphe. CHLOPIN peut démontrer, parfois, que celle-ci imprègne la charpente fibreuse et prend un ton métachromatique dans l'azur, ressemblant, de la sorte, à de la mucoïde.

MOMIGLIANO-LEVI (1930-1932) croit que les fibrilles résultent seulement de la cristallisation (*Bauer* 1934 est d'un avis opposé) de substances du sang, autres que la fibrine, avec participation de produits sécrétés par les cellules.

Pour DOIJANSKI et ROULET (1933), la fibrillogenèse doit être interprétée comme l'action matérielle de la cellule sur la masse intercellulaire ; cette action consiste surtout dans la transformation du milieu plasmatique sous l'influence des produits sécrétés. L'effet mécanique des cellules est limité à une direction des structures élaborées. Parmi les complexes albuminoïdes qui peuvent devenir du collagène, la fibrine a vraisemblablement un rôle primordial *in vivo*, ce qui expliquerait qu'elle soit particulièrement favorable *in vitro*. La transformation du plasma est supposée être le fruit d'une action humorale à distance, des cellules sur le coagulum ; des fibres « ressemblant tout à fait à des fibres collagènes vraies » se développent dans du plasma, séparé d'une culture par un filtre de verre retenant les cellules et non les micelles (ces fibres ondulées se colorent en bleu par l'azan et pas comme la fibrine selon WEIGERT ; elles n'ont pas la résistance du collagène à la digestion tryptique, mais tendent à l'acquiescer au cours de leur maturation). Les mêmes travailleurs (1935) croient aussi obtenir des fibres argyrophiles vraies, dans un milieu dépourvu de cellules.

RUMJANTZEW et SUNTZOWA (1935), SUNTZOWA (1935) n'admettent pas que la fibrine modifiée puisse se transformer directement en fibres

conjonctives, dans les cultures; il n'y a pas de rapports génétiques entre cette substance modifiée et les fibres argyrophiles ou le collagène, malgré une liaison locale étroite et des ressemblances dans les propriétés de coloration dans le dernier cas (mais les filaments de fibrine sont solubles dans l'acide acétique dilué); du reste, la substance fondamentale peut apparaître, chez l'embryon, avant que la fibrine n'existe dans les vaisseaux en développement. Une matière hyaline colorable en bleu pâle (méthode de MALLORY) semble réunir fibres et cellules cultivées. Ces auteurs considèrent comme source de formation des fibres (par cristallisation; analogie avec ce qui se passe pour les cristaux liquides), les chaînes longues de polypeptides et de glyco-colle, proline, oxyproline et autres acides aminés résultant des substances protéiques en général ou de la fibrine en particulier, mais « une telle fibrine décomposée, hydrolysée, n'est plus une fibrine ». Ils s'opposent, sur ce point, à l'opinion de DOLJANSKI et ROULET (1933). Il faut reconnaître que la preuve histo-chimique de la nature collagène des fibres obtenues par ces travailleurs, dans leurs expériences, n'est pas suffisamment établie. Rappelons qu'il est probable, d'après NAGEOTTE (1916), MAXIMOW et BLOOM (1929), que les fibres décrites par BAITSELL (1915), par métamorphose directe de la fibrine, n'étaient pas véritablement collagènes.

Le rôle de l'ovalbumine dans le développement des faisceaux entoblastiques — objet très propice — fournit un document au débat. Dans un milieu de culture composé de plasma et de blanc d'œuf, les faisceaux entoblastiques augmentent de nombre, mais surtout d'épaisseur, d'une façon considérable. Ce fait résulte peut-être, pour une part, du ralentissement plus important de la croissance des cellules qui peuvent mieux manifester leurs propriétés élaboratrices, mais il est extrêmement probable, en outre, qu'il y a surtout, pour cette édification, utilisation d'acides aminés, libérés à la suite de la digestion de l'ovalbumine par les ferments protéolytiques des cellules vitellines [déjà ODIETTE (1933) favorise le développement de fibres par l'adjonction, à ses cultures, de glyco-colle, de tryptophane, de β phényl-alanine, d'acide glutamique, de proline et de créatinine]. Or, il est particulièrement intéressant de remarquer que, tandis que le coagulum de plasma-ovalbumine est digéré en grande quantité, la substance fondamentale dans laquelle s'édifient les fibres entoblastiques (il ne s'agit pas, bien sûr, d'un peu de matière adsorbée ou dissoute dans le milieu, puisqu'elle persiste après un lavage

précédant la fixation), est corrélativement très accrue, comme si elle résultait, effectivement, d'une transformation chimique des protéines du milieu.

Inversement, en liquide de TYRODE pur, les cellules vitellines édifient des fibres grêles ; la formation de faisceaux est possible, mais paraît directement en rapport avec la densité de la population, ce qui suggère que la quantité de substances nécessaires élaborées par les cellules est augmentée dans ce cas. On n'observe toutefois pas de substance fondamentale amorphe ; elle paraît entièrement utilisée à l'édification des fibres.

Si l'augmentation du taux des protéiques du milieu provoque un accroissement très important de la substance fondamentale, c'est grâce à l'activité des cellules. Nous n'avons pas affaire, sous leur influence et avec leur apport, à la cristallisation de substances, ni au passage direct à l'état de fibres vraies, *in situ*, d'une matière préalablement orientée comme un filament de fibrine modifiée, par exemple. Tout se passe comme si les cellules attaquaient par leurs ferments certains protéiques du milieu, ou libéraient des produits préparés (dans le cas des cultures en liquide de TYRODE) ; puis, dans une phase constructive, contribuaient (sans que l'on sache comment, peut-être par d'autres ferments ou par inversion de l'action diastasique), avec une partie des matériaux amassés dans leur champ d'action, à l'élaboration d'un corps nouveau. Celui-ci n'est ni du protoplasme vivant ou mort, ni de la fibrine ou de l'albumine modifiées, etc., mais *une* « substance fondamentale », sans forme apparente définie. Dans les coupes de cultures conjonctives, après digestion artificielle, A. LITVAC (1937) lui décrit une disposition analogue à celle du tissu conjonctif lamellaire de LAGUESSE.

Des auteurs signalent l'apparition de fibres dans les cultures mixtes de tissu conjonctif et épithélial (JORG, 1932 ; RUMJANTZEW et SUNTZOWA, 1936 ; J. LENGYEL, 1937, etc...) (1).

(1) CHLOPIN (1932), WINIKOW (1936) décrivent des fibrilles cytoplasmiques dans des explants épithéliaux. La signification de ces structures de même que celle des tonofibrilles qui leur ressemblent sous certains rapports reste ouverte, d'après WINIKOW.

L'édification de fibres et de faisceaux par un épithélium pur *in vitro* vient d'être démontrée pour la deuxième fois (ma note préliminaire sur cette question est de 1935) par R. LEVI-MONTALCINI et E. SACERDOTE, 1937 (1). Ces auteurs voient dans des cultures pures de l'épithélium de l'iris, au dix-neuvième passage, la formation d'une membrane fibreuse comparable à celles de l'organisme ; ils y distinguent des fibres et des faisceaux ; après virage à l'or des imprégnations argentiques, la membrane est violette, les fibres noires. Ils pensent qu'une matière interfibrillaire est interposée : c'est une substance fondamentale hyaline. La membrane dessine de larges arcs qui délimitent des espaces circulaires ou ovales. Les fibrilles se transforment en gros faisceaux. D'après le titre de leur note préliminaire, LEVI-MONTALCINI et SACERDOTE interprètent ces faisceaux comme étant du collagène. Elles ne signalent pas de disposition architectonique orientée, en rapport avec la structure histiotypique.

Il est vraisemblable que cette substance, même avant sa différenciation, a des caractères spécifiques dans chaque catégorie de tissus, *in vivo* et *in vitro*, d'où les particularités individuelles des structures de soutien édifiées ; dans l'organisme, elle doit provenir en majeure partie des matériaux de la fibrine. On peut supposer qu'elle sert, plus ou moins précocement, raréfiée ou en excès, à l'organisation des fibres sous l'influence de facteurs physico-chimiques qui déterminent l'orientation de ses micelles semi-cristallines.

POUR HERINGA (1924), HERINGA et LOHR (1926), la fibrillogenèse du sol collagène est comparable à la gélification des sols fibrillaires inorganiques qui peuvent former des faisceaux, de même que toutes les substances fibrillaires. Les particules en bâtonnets s'orientent parallèlement comme les groupes de molécules des corps mésomorphes : la quantité et la taille des fibrilles dépendent de la sorte de tissu conjonctif envisagée. Les faisceaux constituent probablement une masse entière ; la répartition en fibrilles serait une propriété comparable à la fissilité d'un cristal.

NAGEOTTE et GUYON (1934) envisagent la polymérisation progressive des molécules de collagène, ce qui peut expliquer les modifications des caractères de solubilité, lors du vieillissement ou selon la nature du colla-

(1) Ces travailleurs annoncent un mémoire plus complet.

gène; ils citent les travaux de STAUDINGER et de ses collaborateurs, pour qui la polymérisation produit des macromolécules filiformes atteignant $1\mu,5$ ou $1\mu,8$ de long sur quelques dix-millièmes de μ d'épaisseur. Les fibres obtenues expérimentalement, avec des solutions collagènes, s'accroissent par intussusception. Il se pourrait que les molécules élémentaires soient capables de s'introduire isolément dans l'édifice déjà polymérisé, ou peut-être même les acides aminés qui serviraient de matériaux, *in situ*, pour l'élaboration des molécules de collagène, avec l'aide de ferments. Les faisceaux fibrillaires, dans le cas des caillots appelés par NAGEOTTE, du type II de la solution de collagène B (obtenue en solution acide, après traitement préalable par un alcali), se développent d'emblée.

Dans l'épithélium vitellin, la matière semble déjà préparée chimiquement avant de servir à l'édification des fibres, mais il se peut que l'apparition de la fibrille ne signe pas plus la fin des remaniements chimiques des corps utilisés qu'elle ne marque l'arrêt de l'évolution physique. Il est très plausible d'écrire, en tout cas, comme le fait excellemment PETERFI (1937) : « ... de même qu'on ne peut expliquer l'organisation de la substance vivante par un seul principe constructeur, — soit la théorie des éléments de construction ou celle du symplasme, — de même on ne peut expliquer l'origine de la substance fondamentale par un seul schéma ». Il est probable, aussi, que le détail du processus n'est pas le même dans tous les tissus, lors de toutes les circonstances. Cependant, les lamelles dites précollagènes de substance fondamentale (LAGUESSE, 1921), à partir desquelles se différencient les fibres, chez l'embryon, se retrouvent chez l'adulte (THIERNESSE, 1935).

Quoi qu'il en soit, *les fibres entoblastiques ne proviennent pas d'un exoplasme ou d'une substance en résultant ; elles se différencient hors des cellules*, comme le fait en culture, d'après un groupe important d'auteurs, la substance conjonctive (BAITSELL, 1925 ; MAXIMOW, 1928-1929 ; HUZELLA, 1929 ; BLOOM, 1929 ; MAC KINNEY, 1930 ; OLIVO, 1930 ; MOMIGLIANO-LEVI, 1930-1932 ; DOLJANSKI et ROULET, 1933 ; RUMJANTZEW et SUNTZOWA, 1935 ; SUNTZOWA, 1935, etc...), alors que l'interprétation d'une origine initialement endocellulaire des fibres conjonctives elles-mêmes, reprise dans quelques travaux

récents, ne paraît pas soutenue par des faits suffisamment convaincants.

Il est remarquable que les faisceaux entoblastiques tendent à prendre toujours une disposition générale, orientée de telle sorte, — des faisceaux principaux en couronne non loin du bord épithélial et d'autres secondaires en rayons, — qu'ils constituent, au mieux, le soutènement des colonies, et cela même en milieu liquide. *C'est un exemple démonstratif d'une organisation ébauchée de l'appareil de soutien, in vitro, en rapport avec la structure histiotypique.* Les cultures de tissu conjonctif sont loin de l'offrir spontanément, au même degré ; l'architectonie des fibres n'y est déterminée que localement par les tractus cellulaires, en direction radiaire en général, exceptionnellement d'une manière concentrique (PARAVICINI, 1934 ; RUMJANTZEW et SUNTZOWA, 1935). Toutefois, dans la région centrale et épaisse des explants conjonctifs, le système des fibres a une orientation constante qui est celle des lignes de tension (M. VON MÖLLENDORFF, 1932). Il faut vraisemblablement trouver, dans la possibilité de construire un appareil de soutien si développé et orienté, l'explication du fait que l'entoblaste vitellin donne aisément de belles colonies épithéliales régulières, en milieu liquide.

L'intensité de la croissance des cultures n'influence pas immédiatement l'édification des fibres entoblastiques, puisque, en deux jours, dans une goutte d'extrait dilué d'embryon, celles-ci et même les faisceaux se sont développés. En ce qui concerne la substance conjonctive, BOFILL-DEULOFEU (1932) considère que les structures fibrillaires abondantes ne se forment que chez les fibroblastes en forte croissance. DOLJANSKI et ROULET (1933), RUMJANTZEW et SUNTZOWA (1935) sont d'avis que l'intensité de la prolifération n'intervient pas.

Des auteurs, comme BOFILL-DEULOFEU, notent la transmission des fibres lors des passages. MAC KINNEY voit leur formation en même temps dans la zone de croissance et aussi dans l'explant, où elles proviennent des fibres originelles ; CHLOPIN (1931) localise leur apparition aux régions centrales de la zone de croissance. RUMJANTZEW et SUNTZOWA, SUNTZOWA concluent qu'elles y naissent du centre vers la périphé-

rie, en rapport direct avec le réseau du fragment ensemencé; mais il y a aussi édification de fibres nouvelles dans la zone de croissance. Leur développement est encore observé dans des cultures où pousse un épithélium, à partir du réseau de l'explant ainsi qu'à la surface des cellules. DOLJANSKI et ROULET pensent que les fibres peuvent être élaborées à la périphérie des cultures. LEVI-MONTALCINI et SACERDOTE (1937) montrent leur indépendance avec celles préexistant, notamment lorsqu'il s'agit de cellules en petit nombre. *Dans le cas des faisceaux entoblastiques, le lieu d'édification est toujours près du bord épithélial, sans rapport génétique avec des faisceaux de l'explant* : il s'agit d'une néoformation provoquée *in vitro*. Ensuite, à l'intérieur de la couronne subliminaire des faisceaux principaux, la direction de l'accroissement est surtout centripète.

CHAPITRE VI

L'évolution de la structure épithéliale.

1. — L'ÉVOLUTION SPONTANÉE.

Nous avons vu que les colonies maintiennent en général leur structure épithéliale jusqu'au septième jour dans les flacons ; jusqu'au quatrième, quelquefois même jusqu'au sixième, dans une goutte pendante de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon. Lorsqu'on ajoute une goutte d'ovalbumine à celle de plasma, la structure épithéliale peut être conservée plus longtemps, par exemple jusqu'au septième jour.

Des passages effectués à partir des colonies épithéliales permettent d'obtenir des cultures secondaires dont la disposition varie peu au cours des premiers repiquages. Après le troisième, cette structure est modifiée profondément. La modification, toujours la même, apparaît, du reste, dans les cultures initiales, mais lorsque la croissance est terminée. Les lames hyaloplasmiques des cellules vitellines se rétractent ; elles deviennent plus basophiles, plus chromophiles en général : l'épithélium prend la disposition d'un réseau avec des interstices, puis des espaces plus ou moins grands entre les travées de cellules dont les limites disparaissent souvent. Les tractus cellulaires peuvent être disposés le long des fibres et des faisceaux. Le bord épithélial est lui-même rompu : il fait place à une zone de cellules en libération, plus ou moins allongées, qui se disjoignent et commencent à émigrer. Cette disposition en réseau, que G. LEVI et surtout Z. GRODZINSKI ont signalée, finit par apparaître d'une façon absolument générale dans toutes les colonies épithéliales d'entoblaste

vitellin, même dans les cultures faites seulement dans une goutte d'ovalbumine, ou ensemencées en flacon, sans extrait embryonnaire.

2. — LES VARIATIONS PROVOQUÉES. LA DÉGÉNÉRESCENCE DES CELLULES.

Des artifices expérimentaux contribuent à modifier la structure des colonies. Les cellules vitellines peuvent s'orienter autour de tissus différents ajoutés aux cultures, tels que des fragments de cœur. Un morceau d'axe nerveux et de chorde dorsale d'embryon du Poulet permet, autour de lui, le développement d'un épithélium vitellin, sous forme d'une couche de cellules assez serrées, peu riches en enclaves, dont les noyaux de grande et de petite taille ne se multiplient pas par caryocinèse. Le bord épithélial, par contre, n'est plus du tout caractérisé : les cellules périphériques sont étalées et se disposent souvent en expansions ou digitations assez longues, quoique la nappe soit à la surface du coagulum.

Le traitement par différents corps chimiques, n'atteignant pas la survie des cellules (p. 536), peut faire varier l'évolution des cultures, d'une façon parfois très sensible, notamment en ce qui concerne la disposition en réseau et l'effilochage du bord. La soude ou la potasse, en solution à M/100 dans le liquide de RINGER, déposée sur les cultures en flacon, le septième jour, pendant trois à quatre minutes, provoque une rétraction progressive des lames hyaloplasmiques, qui peut commencer aussitôt après le traitement ; une demi-heure plus tard, elle est parfois suffisante pour aboutir à l'individualisation de nombreuses cellules. Dans les heures suivantes, un réseau plus ou moins large est constitué. La baryte à M/100 en provoque aussi la formation d'un, mais fin. L'oléate de sodium à M/400-M/500 ne modifie pas sensiblement l'évolution normale de l'épithélium, mais l'addition à celui-ci de cholestérol à M/100 occasionne une dégénérescence lacuneuse. Par contre, les acides chlorhydrique et lactique à M/100 laissent l'épithélium intact pendant les premiers jours. Le venin de *Cobra* (à la dose de 25 γ par culture) fait apparaître un réseau fin, avec rejet de grains de vitellus hors des cellules. Le chlorure de choline à M/500-M/800 change peu l'épithélium, mais un produit de la dégradation finale de la choline : le chlorure de triméthylamine, à M/500, est la cause d'une très forte dégénérescence lacuneuse : la disposition réticulée n'apparaît pas plus que d'habitude, le bord épithélial est res-

pecté, mais des lacunes toujours plus nombreuses et larges surviennent dans le cytoplasme de la plupart des cellules. Finalement, le tissu peut arriver à prendre l'apparence d'un parenchyme végétal dont le cytoplasme aurait été dissous.

Les cellules qui dégénèrent dans les cultures normales affectent souvent cet aspect lacuneux ; il est possible que, dans ce cas, la dégénérescence soit provoquée par un produit de dégradation de la choline. Les cellules deviennent globuleuses, très aréolaires, puis complètement lacuneuses ; elles peuvent être disposées par groupes ou en chaînes droites (fig. 12, en haut et à gauche) ou ramifiées. Des aspects analogues ont été décrits par CH. CHAMPY sous le nom de « cellules en buisson de cactus ». Ici, il ne s'agit que d'involution. Le noyau devient pycnotique ; la chromatine se dispose d'abord en réseau dans tout le noyau, puis en mottes irrégulières, basophiles, quelquefois assez fines, plus rarement en boules inégales.

Cette évolution normale de toutes les cultures épithéliales d'entoblaste vitellin en un réseau n'est pas seulement une image qui traduit un phénomène de dégénérescence comme Z. GRODZINSKI (1930) l'a cru. Lorsque les cultures sont abandonnées à elles-mêmes, les cellules dégénèrent toutes, effectivement ; mais on verra qu'en réalité de semblables colonies peuvent être entretenues d'une façon indéfinie. La disposition en réseau, corrélatrice de la digestion des enclaves de vitellus, est un stade évolutif annonçant l'émigration des cellules épithéliales qui se transforment ensuite définitivement.

CHAPITRE VII

La transformation de la cellule vitelline en cellule du type fibrocyte.

Étudions maintenant, en détail, la transformation progressive de l'épithélium vitellin ; ce processus est suivi directement, d'une part à cause des grandes dimensions des cellules, d'autre part grâce à leurs enclaves de vitellus, sortes de marques colorées aidant à prouver par surcroît, — car les cultures sont pures, — que la variation porte sur les cellules vitellines elles-mêmes. Les éléments transformés, en raison de leurs propriétés acquises, sont désignés comme étant du type fibrocyte.

1. — LES CULTURES EN GOUTTE PENDANTE.

Il est difficile de réussir, d'une façon continue, la série des premiers passages en goutte pendante de l'entoblaste vitellin ; on y parvient cependant. La transformation de la cellule vitelline épithéliale en cellule fusiforme est suivie alors stade par stade.

Il arrive, très rarement du reste, qu'on observe à la périphérie d'une première culture épithéliale en goutte pendante, la formation d'une nappe de croissance secondaire dont les éléments présentent des caractères déjà modifiés. Celle de la figure 12, par exemple, est constituée par des cellules qui, dans la région centrale, sont encore largement étalées et pourvues de lames hyaloplasmiques, mais qui, à la périphérie, s'allongent en travées et tendent à envahir le plasma. Quel-

quefois, l'émigration commence à se manifester au deuxième passage, mais plus généralement après le troisième.

La planche VIII montre la série des stades principaux de la transformation, photographiés à l'état vivant. Quelques

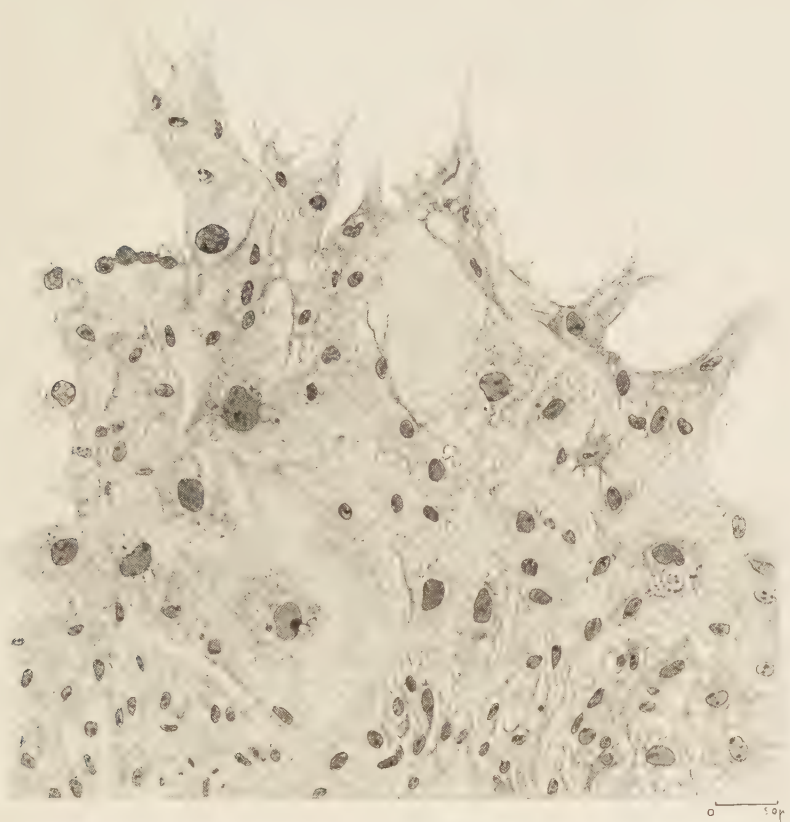


Fig. 12. — Entoblaste vitellin de quatre jours.

Croissance secondaire, au delà du bord épithélial de la colonie, d'une nappe de cellules en transformation. Noyaux très inégaux ; pas de caryocinèse ; petits noyaux abondants ; vitellus en grande partie transformé en graisses ; lames hyaloplasmiques tendant à disparaître chez les cellules périphériques. Une cellule en rétraction (en haut, à droite) ; d'autres en dégénérescence (en haut, à gauche). (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g., vitellus sur l'explant : 1 g. ; 2^e jour). Fix. : formol neutre 10 p. 100 — RINGER. Color. : hémato. de MINK.

cellules vitellines, au troisième passage en goutte pendante, après rupture du bord épithélial (stade 1), émigrent individuellement dans le coagulum ; elles sont encore peu différentes de celles de la nappe. Les unes sont assez larges, les autres s'étirent dans le sens de leur progression et s'amenuisent à leurs

extrémités, en fuseaux souvent parallèles entre eux. Elles mesurent plus de 100 μ de longueur, sur plus de 20 μ de largeur et sont toutes très chargées de vitellus et de graisses. Au quatrième passage (stade 2), la zone d'invasion, beaucoup plus importante, est constituée par des cordons anastomosés des mêmes cellules vitellines, mais celles-ci s'amincissent et diminuent de taille, tandis qu'elles se multiplient activement. Elles contiennent encore du deutoplasme ; toutefois, les grosses enclaves de graisses qui en proviennent, par digestion, sont prédominantes. Au cinquième passage (stade 3), les cellules beaucoup plus petites se reproduisent intensément ; elles se disposent en un feutrage dense ; les enclaves sont maintenant moins abondantes. Au sixième passage enfin (stade 4), la culture a tout à fait le type d'une colonie de fibrocytes, avec une large et belle couronne d'invasion composée d'éléments allongés et serrés, mais non joints, poussant sur plusieurs plans dans le coagulum. Les enclaves sont petites et rares, bientôt digérées complètement au cours des passages suivants. De même, les grosses boules de graisses disparaissent progressivement dans de bonnes conditions.

Si des cultures en goutte pendante, qui manifestent cette transformation en cellules fusiformes au troisième passage, sont, aux quatrième, cinquième et sixième, repiquées en présence d'une goutte de vitellus déposée sur le coagulum, elles continuent à évoluer de même en fuseaux, mais elles sont plus espacées et chargées de vitellus et de graisses.

2. — LES CULTURES EN FLACON.

La transformation des cellules vitellines en fusiformes est beaucoup plus facile à obtenir à partir des cultures épithéliales en flacon de CARREL. Lorsque la croissance est terminée, l'observation microscopique montre que les épithéliums ne contiennent pas un seul fibrocyte : ils sont purs. C'est à partir de ce stade que la transformation peut apparaître plus ou moins précocement. Ces cultures doivent être entretenues par des lavages, le renouvellement de la partie liquide du milieu et, au besoin, la réparation du coagulum de

plasma, ce qui favorise beaucoup la multiplication. Dans les jours suivants (douzième, quinzième jour, ou quelquefois plus tôt), l'émigration devient abondante à la périphérie du réseau épithélial. De grosses cellules gonflées de vitellus (Pl. IX, 1), ovales, parfois arrondies, commencent à s'allonger et à émigrer dans la profondeur du support de fibrine. Elles sont reliées entre elles par des prolongements ramifiés, parfois fort longs et libres à une extrémité, paraissant résulter de l'étirement des lames hyaloplasmiques. D'autres fois, on observe que des cellules déjà allongées, à vitellus en grande partie digéré, prolifèrent, soit à l'ancien emplacement du bord épithélial, soit au sein même du réseau, en pleine auréole d'invasion. Elles se disposent, dans une ou quelques zones, en un feutrage serré, prenant très vite l'aspect de fibrocytes. Si, à ce moment, on recouvre la culture d'un nouveau coagulum de plasma et d'extrait dilué, ces cellules transformées — qui, de la sorte, sont enfouies dans le milieu solide — continuent à se multiplier, tandis que les éléments épithéliaux dégèrent.

Lorsqu'on passe en flacon les cultures repiquées en goutte pendante jusqu'au troisième passage, des cellules vitellines peuvent se disposer en nappe, alors que les autres, isolées, émigrent. Ensuite, celle-là est réduite en lambeaux, se transforme à son tour ou dégénère, tandis que les cellules libérées se reproduisent. Celles-ci (Pl. IX, 2) sont d'abord assez étalées avec quelques prolongements dans diverses directions ; elles ont l'aspect conjonctif, contiennent encore quelques enclaves de vitellus et de graisses.

Quand l'épithélium ensemencé initialement en flacon a subi, en partie, la transformation en cellules du type fibrocyte, il devient aisé d'effectuer des repiquages. L'isolement des cellules transformées est alors plus facile à réussir qu'à partir de cultures poursuivies dès le début en goutte pendante. Passées des flacons en goutte pendante, les cultures poussent initialement sous forme de cordons anastomosés plus ou moins larges, parfois très longs, minces, rectilignes ou incurvés, s'insinuant loin dans le coagulum.

Dans la suite, quel que soit le mode d'isolement, les cellules prennent l'aspect de colonies de fibrocytes ; lorsque la trans-

formation apparaît en flacon, l'évolution est seulement plus rapide.

3. — LES TRANSFORMATIONS CYTOLOGIQUES.

La transformation de la structure des cellules s'effectue au cours de l'émigration, surtout dans les cultures en goutte pendante en multiplication active.

La planche XXV, figure 8, représente une cellule fusiforme, au sixième passage, cultivée dans une goutte d'extrait embryonnaire dilué, colorée vitalement par le rouge neutre. Quelques grains de vitellus sont rouge vif ; quatre enclaves de petite taille et une autre plus grande ont un fond rose pâle avec quelques grains rouge vif. On voit encore d'un côté du noyau ovale, quelques vacuoles teintées représentant le vacuome de la cellule vitelline ; elles tendent à se grouper, à acquérir une polarité. Dans les cultures en sérum, l'ensemble des vacuoles du cytoplasme paraît moins important. Quelques boules réfringentes et non colorées sont constituées par des glycérides qui deviennent roses par le bleu de Nil et bruns dans l'acide osmique. Le chondriome est toujours représenté (fig. 13₁) par des mitochondries entre les enclaves et par des chondriocontes très abondants, longs et grêles, dans le reste du cytoplasme. Quelques masses de vitellus en digestion retiennent la rubine, sous l'aspect de grains foncés sur fond pâle.

Si les cellules épithéliales n'entrent pas en transformation, elles ne tardent à dégénérer ; par contre, elles prolifèrent activement dans le milieu même où leurs congénères disparaissent, dès que la variation se manifeste. A ce moment, les cellules qui avaient cessé d'employer la mitose et ne se reproduisaient plus que par division directe recommencent à se multiplier par caryocinèse.

La figure 14 groupe quelques stades des nouvelles mitoses de cellules vitellines en transformation. A la prophase (1 et 2), les chromosomes sont minces, les uns longs, parfois arqués, les autres courts ou en granules. On en compte 70 (1) et 69 ou 70 (2). Dans le noyau de ces deux cellules en pro-

phase (ainsi que dans celui de la cellule n° 5) subsiste un organite supportant quelques granules chromatiques ; il

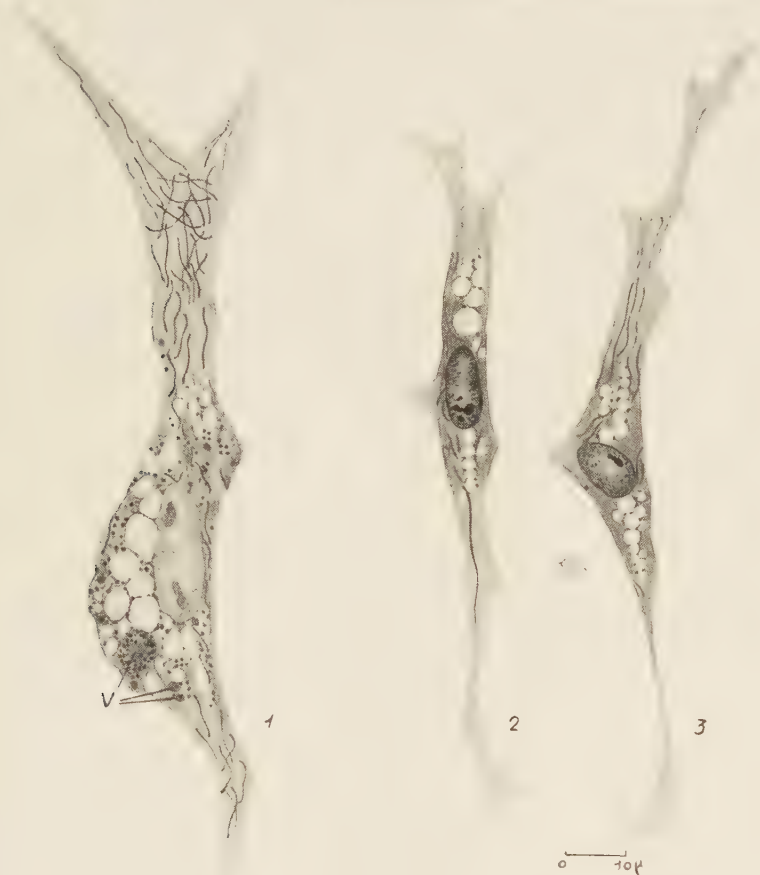


Fig. 13. — 1. Cellule vitelline se transformant en élément du type fibrocyte. Endoplasme avec enclaves de vitellus en digestion (V) et graisses dissoutes. Mitochondries entre les enclaves. Chondriocotes dans le reste du cytoplasme. Noyau allongé (Pl. : 1 g. ; e. e. dilué : 1 g. ; 3^e jour ; provient d'une culture en transformation en flacon). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : VOLKONSKY. — 2. Deux petites cellules du type fibrocyte provenant de la transformation de cellules vitellines. Absence de vitellus. Mitochondries entre des boules de graisses. Quelques chondriocotes parfois très longs (Pl. : 1 g. ; e. e. dilué : 1 g. 3^e jour ; 37^e passage ; 159^e jour au total). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. ferrique de REGAUD.

semble bien être un reste du plasmosome existant dans le noyau épithélial. Les stades 3, 4 et 5 indiquent trois aspects de la métaphase ; les chromosomes sont plus épais et tassés (3 et 4), rarement en crochets longs et espacés (5) ; on en

compte respectivement, à chacun de ces stades, 30, 30 et probablement 30. On a figuré enfin une anaphase (6). Nous reviendrons, au cours de la quatrième partie (p. 520), sur la variabilité du nombre des chromosomes chez la Poule.

Dans les cultures transformées depuis peu ou qui sont en train de l'être, on note une très grande différence de taille



Fig. 14. — Stades des premières caryocinèses réapparaissant dans les cellules vitellines lorsque celles-ci commencent à se transformer spontanément en cellules du type fibrocyte.

1 et 2, prophase ; 3 à 5, trois aspects de la métaphase ; 6, une anaphase. En 1, 2 et 5, reste d'un organite paraissant être le plasmosome. Entoblaste vitellin pur de quatre jours (culture en flacon à lamelle amovible. E. e. 20 p. 100 dans s. L. 25 p. 100 ; 7^e jour). Fix. : formol 4, acide acétique 1 (dilution du mélange à 1/3). Color. *in toto* : hémato. de MINK.

entre les noyaux des cellules ; parfois de petits noyaux s'observent à côté des gros. Les figures de dégénérescence nucléaire sont assez nombreuses : pycnoses, noyaux troués, d'autres presque vides de leur contenu avec des grains de chromatine contre leur membrane ; quelques noyaux pycnotiques sont géants. De même, le cytoplasme peut dégénérer ; il se rétracte en boules basophiles. Mais les caractères de la majorité des cellules en transformation se stabilisent. Dans les

premiers passages en gouttependante, les cultures s'accroissent encore sous forme de cordons anastomosés plus ou moins larges. A partir du septième passage, le vitellus originel a disparu, la multiplication s'effectue régulièrement par caryocinèse, les cellules vitellines ont acquis dès lors définitivement leurs nouveaux caractères.

DEUXIÈME SECTION

LES CULTURES DE CELLULES DU TYPE FIBROCYTE ISSUES DE L'ENTOBLASTE VITELLIN

CHAPITRE PREMIER

La structure des colonies et des cellules.

Les cellules vitellines transformées sont repiquées tous les deux ou trois jours, dans une goutte de plasma mélangée à une d'extrait embryonnaire dilué, exactement comme des fibrocytes mésenchymateux ; la liquéfaction n'est pas plus fréquente que dans les souches de cette dernière origine. La croissance régulière des colonies permet de les partager à chaque repiquage. Les cultures dessinent autour de l'explant, au sein du coagulum, une large auréole de croissance, sous l'aspect d'un feutrage dense d'éléments minces et allongés. Elles ne sont plus définies par un bord net, mais par la limite d'extension plus ou moins régulière des travées radiaires. Toutefois, à la périphérie des cultures, surtout en milieu liquide, les cellules vitellines du type fibrocyte, peuvent encore s'étaler assez largement.

De nombreuses souches de ces cellules ont été isolées ; elles provenaient de la transformation de l'entoblaste vitellin épithélial prélevé de la cinquante-troisième heure au sixième jour. Ces souches ont été entretenues par passages, plus ou moins longtemps, par exemple pendant plus de cinq mois, et ont été abandonnées volontairement, en bon état, en raison des nécessités du laboratoire. *Ainsi les cellules vitellines épithé-*

liales, dans les cultures, ont pris les caractères des fibrocytes, dont la multiplication, *in vitro*, est théoriquement indéfinie. Normalement éphémères, puisqu'elles entrent en résorption du dix-neuvième au vingt et unième jour, *in ovo*, elles ont acquis la pérennité, grâce à l'expérimentation.

Les cellules vitellines du type fibrocyte sont fusiformes, souvent très allongées; elles mesurent plus de 100 μ . de long sur 10 μ . de large environ. En multiplication active, elles sont com-

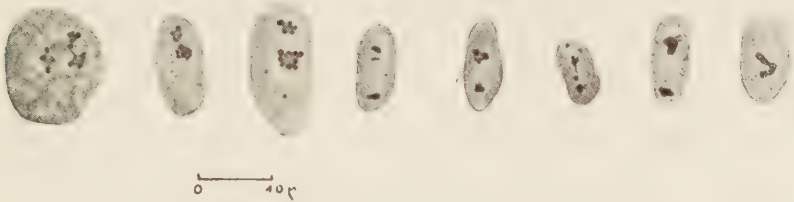


Fig. 15. — Les noyaux des cellules vitellines du type fibrocyte sont acidophiles; lorsque les éléments sont étalés (à gauche), la chromatine basophile est dispersée en grains à la périphérie d'un ou deux plasmosomes acidophiles.

Dans les noyaux des cellules non étalées (à droite), la chromatine est condensée en une ou deux masses basophiles (Pl.: 1 g., e. e. dilué: 1 g.; 2^e jour; 38^e passage; 161^e jour au total) Fix.: FLEMING. Color.: safranine-vert lumière. Reproduction d'un dessin en couleurs.

plètement dépourvues de vitellus. La coloration vitale au rouge neutre (Pl. XXV, fig. 9) ne met plus en évidence qu'un groupe de petites vacuoles colorées en rouge vif, polarisées le long d'un des côtés du noyau ovale; cette situation des vacuoles est toujours caractéristique. Des boules de glycérides non colorées et réfringentes peuvent se trouver dans le cytoplasme; elles sont très peu nombreuses dans les bonnes cultures en multiplication rapide. Le chondriome est représenté par des mitochondries entre les glycérides et par des chondriocontes grêles et quelquefois très longs, dans le cytoplasme (fig. 13_{2 et 3} et surtout Pl. XXVIII). Le noyau quiescent est plus ou moins ovale, généralement acidophile, avec une ou deux masses fortement basophiles. Dans les cellules très allongées, ces deux amas retiennent d'une manière uniforme l'hématoxyline au fer, ou la safranine (fig. 15), et sont situées, fréquemment, près de chaque pôle du noyau. Celui-ci s'arrondit, lorsque les éléments s'étalent; on remarque, alors, que les deux formations basophiles sont constituées en réalité par deux petits plasmosomes acido-

philes supportant des grains de chromatine dispersés à leur périphérie ; ceci est particulièrement bien mis en évidence par fixation dans le liquide de FLEMMING et coloration à la safranine — vert lumière ; quelques autres granulations ou un fin piqueté basophile peuvent encore être observés sur le fond acidophile. La chromatine reste généralement plus condensée dans les noyaux d'origine mésenchymateuse ; lorsqu'on peut y apercevoir un plasmosome, ce n'est pas d'habitude avec une aussi grande netteté que chez les cellules vitellines transformées mais étalées, où la chromatine est visiblement granulaire. Notons, de plus, que les noyaux restent assez inégaux.

CHAPITRE II

Les propriétés physiologiques.

La transformation des cellules vitellines épithéliales en fusiformes correspond-elle à une modification des propriétés physiologiques ?

Sur des cellules vitellines du type fibrocyte au onzième passage, cultivées dans une goutte de plasma, une de liquide de TYRODE et des traces d'extrait d'embryon, on dépose, le deuxième jour, une goutte d'une dilution stérile, dans le liquide de TYRODE, d'encre de Chine à 1/100, ou de trypano-bleu à 1/2 000, ou de carmin lithiné à 1/20. Ces cultures sont remises à l'étuve, examinées quatre heures, sept heures, vingt heures plus tard, puis fixées au formol, montées et analysées.

On n'observe ni phagocytose, ni accumulation des colorants dans les éléments normaux. La même épreuve est renouvelée sur des cellules au vingt-deuxième passage cultivées dans une goutte de sérum, en présence de traces d'extrait. Le deuxième jour, on mélange au sérum une goutte des dilutions précitées. Les résultats sont encore négatifs.

Il est arrivé, une fois, que les cellules, sous l'action du carmin de ORTH ont formé directement de petits éléments libres, arrondis, à lobopodes assez nombreux et qui accumulaient fréquemment le colorant (Voir p. 508).

Des cultures aux vingt-deuxième et vingt-troisième passages dans une goutte de sérum ou dans une de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon reçoivent une goutte de vitellus à 50 p. 100 dans le liquide de TYRODE. Quand les colonies sont en bon état, leur structure est conservée ; les jours suivants, les cellules se remplissent d'en-

claves grasses nombreuses et d'assez grande taille. Dans les cultures en goutte pendante solide, ce sont les cellules superficielles qui sont surchargées de graisses. Les colonies, fixées au formol neutre à 10 p. 100, puis traitées par le bichromate de potassium à saturation, à 38° pendant vingt-quatre heures, sont ensuite colorées à l'hématoxyline de KULTSCHITZKY. Les éléments contiennent des enclaves plus ou moins volumineuses et nombreuses, colorées en bleu noir intense, soit d'une façon homogène, soit sous l'aspect d'un réseau avec des vacuoles incolores. Les grains de vitellus déposés sur le coagulum gardent, comme normalement, une coloration brune. Il n'est pas certain que des grains soient phagocytés ; mais on observe, en tout cas, une accumulation de lipines ou de corps gras non saturés, nettement en rapport avec l'addition du vitellus au milieu de culture. Il y a donc digestion des grains ; ce processus s'effectue soit hors des cellules, à la suite de l'émission de ferments, soit, rapidement, dans le cytoplasme aussitôt après la phagocytose.

Les fibrocytes mésoblastiques deviennent riches en graisses en présence de vitellus. Trois cultures de fibrocytes issus du cœur, au septième passage, en flacon de CARREL, en croissance ralentie, nourries tous les deux ou trois jours au plasma hépariné, reçoivent [le sixième jour X gouttes de vitellus à 50 p. 100 pendant quatre heures ; elles sont ensuite lavées trois fois, rapidement, au liquide de TYRODE ; du vitellus est encore déposé sur les cultures le dixième jour. On constate, d'une part, que celui-ci n'a pas d'influence appréciable sur la courbe de croissance ralentie et, d'autre part, que les fibrocytes se remplissent d'enclaves grasses et tendent à s'étaler à la périphérie des cultures. Il n'est pas exclu, dans ce cas, qu'il s'agisse seulement de dégénérescence graisseuse.

De même que les fibrocytes proprement dits, les cellules vitellines du type fibrocyte ne sont pas douées, dans les conditions normales, des propriétés de phagocytose et de colloïdopexie, ainsi que du pouvoir d'accumuler un colorant acide comme le trypano-bleu. Elles se chargent d'enclaves lipiniques provenant de la digestion et de l'absorption du vitellus déposé sur les cultures.

CHAPITRE III

Étude expérimentale de la croissance.

La croissance des cultures de cellules du type fibrocyte provenant de la transformation de l'entoblaste vitellin est mesurée dans les mêmes conditions que celle des colonies épithéliales (p. 243). L'ensemencement est effectué dans le coagulum de plasma, comme s'il s'agissait de fibrocytes d'origine mésenchymateuse. Le renouvellement de la partie liquide du milieu, après lavage des cultures, a lieu tous les deux ou trois jours ; c'est une dilution d'extrait d'embryon dans le liquide de TYRODE : il n'est plus nécessaire d'employer le sérum du Lapin comme au stade épithélial. Les cultures à croissance ralentie sont collées au fond du flacon, recouvertes par le coagulum, nourries tous les deux ou trois jours avec du plasma hépariné, pendant quatre heures environ.

Les mesures sont effectuées alors que les souches de fibrocytes vitellins sont encore jeunes (vingt et unième passage au plus). Une perte de l'énergie de croissance des cellules vitellines se manifeste dès qu'elles ont acquis leurs caractères nouveaux.

1. — LA CROISSANCE RÉELLE MOYENNE.

Le tableau 5 donne les chiffres moyens de la croissance de cinq séries de cultures en flacon de CARREL provenant d'une même souche de cellules vitellines du type fibrocyte dont l'énergie de prolifération n'a pas été très forte.

Dans l'extrait d'embryon à 10 p. 100 (fig. 16), la surface des cultures augmente environ du double chaque jour, jus-

qu'au troisième ; ensuite la croissance est progressivement plus faible. Du troisième au sixième, l'augmentation totale

NOMBRE de cultures mesurées.	NOMBRE de passages des cultures.	CONCENTRATION de l'extrait d'embryon.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	JOURS.
6	10 et 12	50 p. 100	2,3	9,3	21,7	36,9	53,8	66,4	83,1	96,7	116,7	»	»	Moyenne en mm ² .
3	9	30 p. 100	3	10,5	22,7	38,9	50,6	64,7	81,6	95,6	116,5	»	»	
6	9	20 p. 100	1,8	9,1	24,5	42,4	54,8	61,2	70	76,3	87,2	»	»	
4	8	10 p. 100	3	6,7	13,7	27,6	37,9	44,5	51,7	63,1	56	»	»	
6	7	Plasma hépariné.	3,3	6,3	12,4	16,9	21,4	26	31,7	36,7	40,1	45,8	49,6	

TABLEAU 5. — Croissance réelle moyenne d'une souche de cellules vitellines du type fibrocyte.

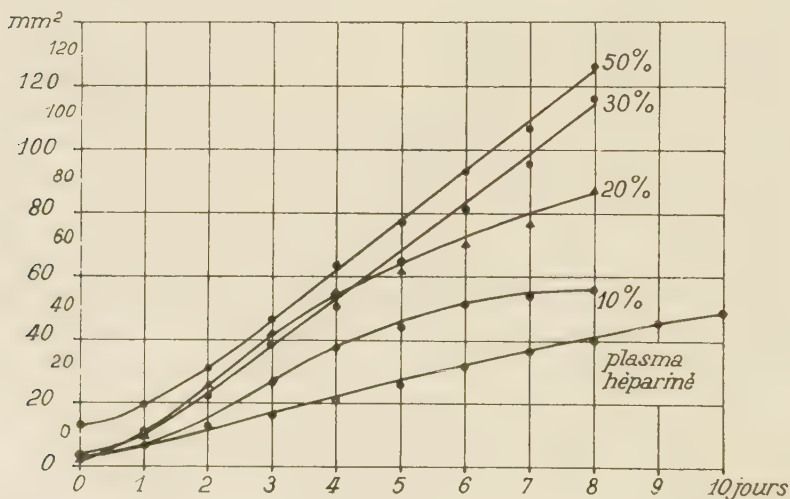


Fig. 16. — Croissance réelle moyenne d'une même souche de cellules du type fibrocyte provenant de la transformation de l'entoblaste vitellin pur de quatre jours : d'une part, selon la concentration de l'extrait d'embryon ; d'autre part, en plasma hépariné (cultures en flacon de CARREL ; la partie liquide est renouvelée tous les deux ou trois jours).

n'est que d'un peu moins du double. Du sixième au huitième, l'accroissement est très faible. Dans l'extrait à 20 p. 100,

30 p. 100 et 50 p. 100, la surface grandit très considérablement le premier jour (surtout à 20 p. 100) ; de plus du double le deuxième ; de même, du deuxième au quatrième ; mais du quatrième au huitième jour, si le gain reste de moins du double à 20 p. 100, il est une fois encore de plus du double à 30 p. 100 et 50 p. 100. On remarquera, du reste, que la courbe représentative de la croissance, à la concentration de 50 p. 100, est presque semblable à celle de 30 p. 100. En plasma hépariné, le développement est faible, mais se poursuit en s'atténuant, au moins dix jours.

Des souches différentes de cellules du type fibrocyte issues de l'entoblaste vitellin peuvent avoir une énergie résiduelle différente ; par exemple, plus forte que celle indiquée précédemment. La surface moyenne observée pour une autre souche, dans une période de vitalité remarquable, a été de $300\text{mm}^2,7$, le huitième jour, dans l'extrait d'embryon à 30 p. 100. La même lignée, en plasma à l'héparine, a atteint en moyenne, pendant le même laps de temps, $104\text{mm}^2,3$, le dixième jour (1).

Si, bien que les taux de l'énergie de croissance des souches soient relativement inégaux, on établit la moyenne des mesures effectuées sur trois groupes de séries de cultures provenant de deux isollements différents (tableau 6), on construit deux courbes moyennes (fig. 17). Dans l'extrait embryonnaire à 30 p. 100, la croissance dure jusqu'au huitième jour, les cultures ayant alors une surface moyenne de 168 millimètres carrés. De l'ensemencement au premier jour, la surface augmente de plus du triple ; du premier au deuxième, d'un peu moins du triple ; du deuxième au quatrième, de plus du double ; enfin, encore de plus du double, mais entre le quatrième et le huitième. En plasma hépariné, la croissance se

(1) Il convient de signaler que les souches de cellules du type fibrocyte mesurées proviennent de cultures épithéliales d'entoblaste vitellin, transformées au cours de traitements particuliers (action de NaOH M/100, par exemple, dans certaines conditions, p. 537). Les éléments, isolés à la suite d'interventions expérimentales, sont analogues à ceux qui sont issus spontanément des cellules vitellines épithéliales ; mais il semble que les diverses souches diffèrent entre elles, dans certaines limites, par le taux de leur énergie résiduelle ; dans tous les cas, la faculté d'assimiler les protéines du sérum est perdue.

poursuit en s'atténuant jusqu'au dixième jour, l'aire moyenne

NOMBRE de souches différentes.	NOMBRE de cultures mesurées.	NOMBRE de passages des séries de cultures.	LIQUIDE du milieu de cultures.	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	JOURS
2	10	9, 11, 21	Extrait d'embryon à 30 p. 100.	2,3	8,8	24,1	42,2	64,4	89,9	113,1	136,9	168,7	»	»	
2	14	7, 11, 20	Plasma hépariné.	3,5	7,7	15	22,8	28,4	34,5	40,7	46,5	51,1	55,9	59,4	Moyenne en mm ² .

TABLEAU 6. — Croissance réelle moyenne de deux souches de cellules vitellines du type fibrocyte.

des cultures étant alors de 59 millimètres carrés. Dans les premières 24 heures, l'aire devient au moins double ; du

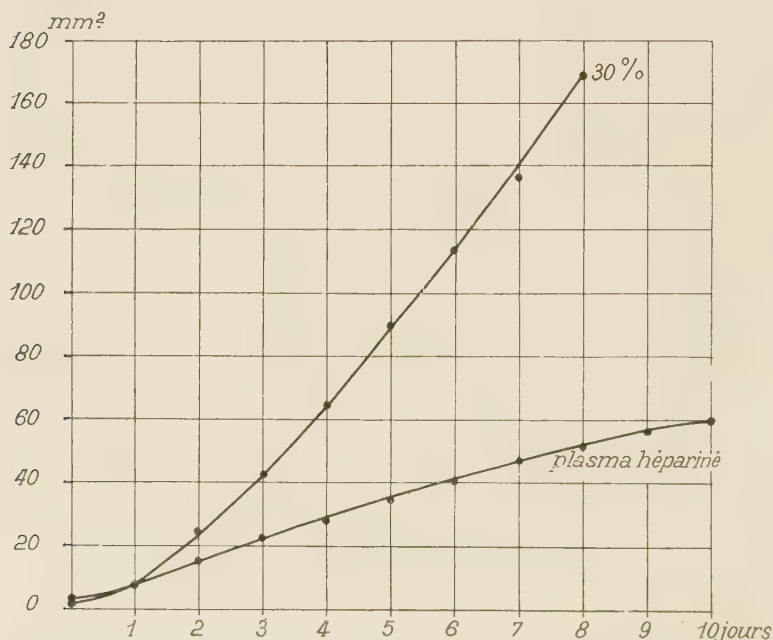


Fig. 17. — Croissance réelle moyenne de deux souches de cellules vitellines du type fibrocyte dans l'extrait d'embryon à 30 p. 100 et dans le plasma hépariné (cultures en flacon de CARREL ; la partie liquide est renouvelée tous les deux ou trois jours).

premier au deuxième jour, elle augmente du double ; du deuxième au quatrième, d'un peu moins du double et seule-

ment d'un peu plus encore, entre le quatrième et le dixième jour.

2. — LES CARACTÉRISTIQUES DE LA CROISSANCE.

La surface des colonies de cellules vitellines du type fibrocyte, au huitième jour, est d'autant plus grande que l'extrait employé est à une concentration plus forte, jusqu'à un optimum de 30 p. 100. A 50 p. 100, elle est voisine de celle obtenue à 30 p. 100. De 10 p. 100 à 50 p. 100, l'aire est plus du double le deuxième jour, puis à nouveau le quatrième ; il en est régulièrement de même, en deux jours, lorsque les cultures sont en goutte pendante. En plasma hépariné, la multiplication est très ralentie ; le taux faible de l'énergie résiduelle de croissance indique que les cellules ne peuvent se nourrir directement des protéines du sérum.

Ces caractéristiques sont analogues à celles des fibrocytes mésoblastiques, dont les colonies, lorsqu'elles sont issues du cœur, par exemple, doublent au moins leur surface en quarante-huit heures ; leur développement est en fonction de la concentration de l'extrait, jusqu'à la limite de 40 p. 100, mais de 40 à 80 p. 100 le rendement n'est ni meilleur, ni diminué ; il n'y a pas nutrition par les protéines du sérum (CARREL et EBERLING, 1921). Remarquons que les grandeurs des croissances résiduelles des cellules vitellines du type fibrocyte et des fibrocytes proprement dits sont de même ordre, quoique, chez ces derniers, les souches diffèrent entre elles, à ce point de vue, selon leur origine (os, cartilage, muscle, cœur) (PARKER, 1929).

Une comparaison entre la croissance de l'entoblaste vitellin épithélial (p. 250) et celle de ce tissu lorsque ses cellules sont devenues analogues aux fibrocytes est très suggestive jusqu'au sixième jour. Au stade épithélial, la surface finale des cultures, dans l'extrait d'embryon à 10 p. 100, devient double par rapport à celle des colonies qui en sont privées. Au stade du type fibrocyte, pour une lignée, l'augmentation est notablement inférieure au double. Dans l'extrait aux concentrations de 10 p. 100, 20 p. 100, 30 p. 100, les aires des colonies épithéliales ne présentent pas entre elles de différences marquées (454, 476, 456 millimètres carrés), comme celles d'une

souche devenue du type fibrocyte (51, 70, 81 millimètres carrés), et comme cela se produit chez les fibrocytes mésenchymateux. Mais, remarquons surtout qu'au sixième jour la surface moyenne des cultures dans l'extrait d'embryon à 30 p. 100 est de 456 millimètres carrés (476 à 20 p. 100) pour l'épithélium et 113 millimètres carrés pour les cellules fusiformes, soit une diminution de plus de quatre fois. Sans extrait, l'aire moyenne est de 227 millimètres carrés pour l'épithélium et seulement de 40 millimètres carrés pour les cellules du type fibrocyte, soit un abaissement de plus de cinq fois.

Autant qu'on puisse comparer entre elles les surfaces finales de cultures de tissus, comme un épithélium et des cellules du type fibrocyte, dont l'organisation et le mode de multiplication sont si différents, on peut dire que la transformation de la cellule vitelline épithéliale en cellule du type fibrocyte correspond, d'une part, en présence d'extrait embryonnaire, à une perte de l'accroissement de plus de quatre fois et, d'autre part, à une diminution de l'énergie résiduelle de croissance de plus de cinq fois. Cet élément perd la propriété d'utiliser en partie les protéines du sérum, en même temps, du reste, que son pouvoir fibrinolytique intense.

CHAPITRE IV

Les propriétés élaboratrices des cellules vitellines du type fibrocyte.

La cellule vitelline, dont les propriétés élaboratrices n'avaient jamais été mises expérimentalement en évidence, peut, une fois transformée en cellule du type fibrocyte, édifier des fibres et des faisceaux et sécréter un produit comparable au vitellus que renferme l'entoblaste de la vésicule ombilicale. Il est évident, de plus, qu'elle fournit les ferments nécessaires à la digestion des enclaves élaborées.

1. — L'ÉDIFICATION DE FIBRES ET DE FAISCEAUX.

Cultivons des colonies pures de cellules vitellines du type fibrocyte, par exemple au trente-huitième passage, dans un coagulum de plasma sans extrait d'embryon ou dans une goutte de sérum. Il y a édification de fibres et de faisceaux, visibles sur le matériel vivant. Ces structures sont facilement mises en évidence par les colorants électifs du collagène, comme la méthode de l'azan ; on peut même obtenir de belles préparations par l'hématoxyline de KULTSCHITZKY, après post-chromisation (Pl. XXVII, fig. 2).

Fibres et faisceaux sont colorés par le bleu d'aniline, ou en brun par l'hématoxyline acétique. Ils sont très abondants, surtout vers l'explant, même dans les cultures en sérum ; leur direction est radiaire, quelquefois concentrique près de la région centrale de la colonie. Leur architecture est analogue à celle des édifices de soutien des fibrocytes mésenchymateux ; elle n'a plus aucun rapport avec le système orien-

té servant de structure à l'épithélium vitellin. Les faisceaux plus ou moins flexueux, non anastomosés en général, ne sont pas aussi épais qu'au stade épithélial. Des fibres et de fines fibrilles très nombreuses sont entre, sur ou sous les cellules, dans toutes les régions des cultures ; les dernières correspondent aux formations argyrophiles de l'épithélium vitellin.

Des cultures au onzième passage, nourries en flacon pendant vingt-sept jours, avec du plasma hépariné, ou, initialement, avec de l'extrait d'embryon à 30 p. 100, sont coupées verticalement, puis colorées par la méthode de l'azan. Les faisceaux bleus, entre lesquels sont emprisonnées les cellules, sont très longs, épais, assez réguliers, extrêmement abondants, orientés radiairement, non anastomosés et superposés ; ils présentent des ondulations nombreuses, surtout dans la partie épaisse de la population.

Rien n'autorise, ici encore, à considérer l'origine des fibres comme endocellulaire : elles apparaissent dans une substance fondamentale dont l'étude est beaucoup plus difficile à poursuivre que chez les cultures de l'épithélium initial. Dans les zones denses des colonies se développant sur lamelle, dans une goutte de sérum ou sur coupes de celles conservées en flacon, dans le plasma, on distingue une matière bleutée entre les faisceaux ; mais la substance fondamentale n'est pas visible dans les parties clairsemées.

Si l'on se reporte à la description de l'appareil fibreux des colonies d'épithélium vitellin (p. 324), on perçoit la variation profonde que ce système subit dans sa forme et son architecture, du fait de la transformation des cellules vitellines en éléments du type fibrocyte. Ces structures, d'origine extracellulaire, ressemblent pour une partie (les fibres fines) aux formations réticulaires ; pour l'autre, aux faisceaux collagènes qu'édifient les fibrocytes mésenchymateux.

En tout cas, un observateur ne peut distinguer sûrement, sans examen spécial, une colonie de souche ancienne de cellules vitellines à type fibrocyte d'une de fibrocytes mésenchymateux.

2. — LA SÉCRÉTION D'UN PRODUIT FIGURÉ COMPARABLE AU VITELLUS.

Nous savons que les cellules du type fibrocyte résultant de la transformation de l'épithélium vitellin sont, après le sixième passage en goutte pendante, dépourvues du vitellus qu'elles contenaient à l'origine. Elles restent privées d'enclaves, tant qu'elles se multiplient fréquemment. Mais, si elles sont placées, même après plusieurs mois de culture, dans les conditions de la multiplication ralentie (soit, entre le onzième et le quarante-septième passage, ou même plus tard, dans un coagulum de plasma sans extrait d'embryon, en flacon de CARREL, avec comme nourriture du plasma hépariné tous les deux ou trois jours ; soit dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait), elles font toujours preuve de la même propriété : elles sécrètent un produit figuré comparable au vitellus. Nous allons l'analyser.

A. — *L'observation des cellules vivantes.*

Les colonies en multiplication ralentie sont denses ; seuls les éléments de la périphérie des cultures sont un peu espacés (fig. 18₁) et étalés. Des grains d'aspect graisseux, de couleur jaune brun, apparaissent dans les cellules, où ils deviennent progressivement plus nombreux. Certaines en sont presque complètement remplies, mais ils s'accumulent plus généralement dans la partie du cytoplasme qui est opposée au sens de la progression. D'autres, isolés, coalescents ou fusionnés, sont libres hors des cellules.

Les éléments vitellins du type fibrocyte observés à l'état vivant, au fort grossissement, sont allongés, remplis de grains deutoplasmiques serrés les uns contre les autres et de taille assez régulière (Pl. X, 3). Le long d'un côté du noyau allongé est une région bien individualisée, n'en renfermant que peu ; nous verrons que c'est une zone active ou de GOLGI. Dans la suite, les cellules distendues par les grains s'élargissent plus ou moins, réservant encore une zone de GOLGI ou la masquant complètement (Pl. X, 1). Les enclaves centrales fusionnent et sont progressivement transformées, par digestion, en grosses boules de glycérides réfringentes et incolores, alors que celles de la périphérie restent petites et bien individualisées.

De longs prolongements cytoplasmiques apparaissent souvent en bordure des grandes cellules (Pl. X, 2, 4, 5). En observant celles-ci à l'état vivant, on remarque que les grains cheminent dans les tractus, initialement dépourvus de deuto-

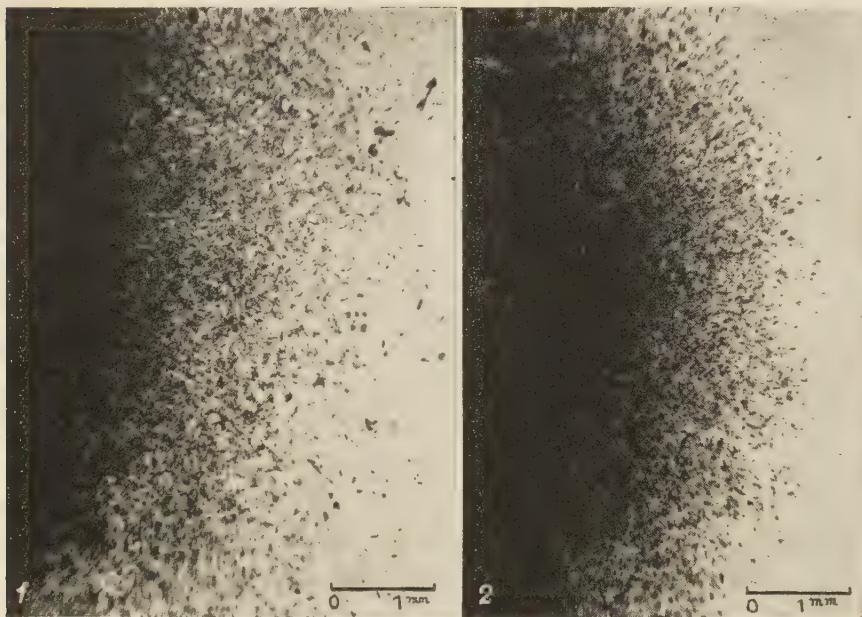


Fig. 18. — Fibrocytes vitellins en multiplication ralentie, en flacon (24^e jour).
État vivant (20^e passage).

Le plasma hépariné de la partie liquide (1 et 3) a été remplacé par de l'ovalbumine (2).

plasme (Pl. X, 4), et qui, finalement, en contiennent (Pl. X, 5). Ils semblent pouvoir se séparer et être à l'origine de grosses enclaves libres à substrat cytoplasmique, chargées de vitellus.

On peut suivre, en outre, l'individualisation de celles-ci dans le corps même des cellules.

Les enclaves de vitellus à substrat cytoplasmique, une fois libérées, manifestent un certain amiboïsme. L'une, composée de plusieurs grains (fig. 19), vient de se séparer d'une cellule ; sa forme varie, s'élargissant à une extrémité, se resserrant à l'autre, tandis que les sphérules changent de place. De telles formations se déplacent par suite de leurs mouvements propres ; elles traversent en cinquante minutes, par exemple, deux

champs microscopiques observés à l'objectif à immersion. La digestion des grains de vitellus semble pouvoir se poursuivre dans les enclaves libres jusqu'au stade de glycérides. Les phénomènes rapportés ici rappellent ceux qui ont été décrits,

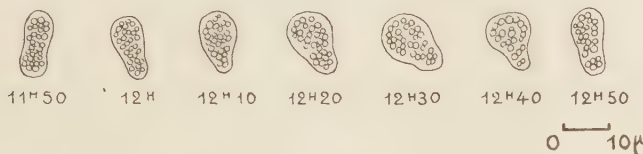


Fig. 19. — Amibose (à 38°) d'une enclave formée par plusieurs grains de vitellus sur un substrat vraisemblablement cytoplasmique.

On a observé que cette enclave venait d'être libérée d'une cellule vitelline du type fibrocyte. Entoblaste vitellin de quatre jours (26^e passage. Sérum : 1 g.).

à propos de la cellule épithéliale (p. 320), sous le nom de *clasmatose vitelline*.

L'enregistrement cinématographique du comportement des cellules vitellines du type fibrocyte montre que toute la partie végétative antérieure de l'élément entraîne celle où les grains sont accumulés. Ceux-ci sont assez vivement agités, parfois en groupe de deux ou plus ; d'autres paraissent, au moins sur le film, repoussés par les chondriocotes. La zone de GOLGI, peu granuleuse, est bien visible à côté du noyau ; elle est déplacée avec lui ou partiellement déformée, lors des mouvements de la cellule. On voit aussi que des grains accumulés deviennent plus superficiels, sont près d'être libérés sans que cela réussisse toujours d'emblée, puis, finalement, sont rejetés souvent deux à deux, ou en plus grand nombre ; une fois libres, ceux-ci, isolés, coalescents ou fusionnés, subissent des mouvements rapides qui peuvent être en rapport avec des stades de la digestion du deutoplasme. L'agitation des grains libres cesse, d'ailleurs, lorsque le vitellus est transformé en glycérides.

B. — Étude cytologique.

La comparaison des résultats de méthodes cytologiques convergentes permet de suivre la formation des sphères de vitellus, chez les cellules vitellines du type fibrocyte qui en sont initialement dépourvues.

Au début des expériences, la coloration vitale au rouge neutre ne met en évidence que les vacuoles normales, polarisées le long du noyau comme nous l'avons vu (p. 348, et Pl. XXV, fig. 9). Les jeunes grains de sécrétion apparaissent dans la zone des vacuoles ; mais ils ne prennent pas, initialement, la coloration au rouge neutre. A ce stade, des imprégnations argentiques selon Da FANO révèlent, d'une part,

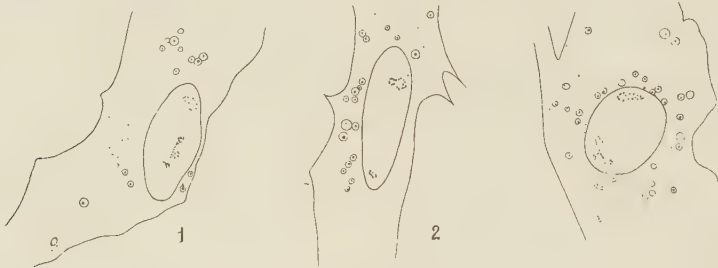


Fig. 20. — Imprégnation à l'argent des fines vacuoles et des grains de sécrétion naissant, envacuolés, dans les cellules du type fibrocyte issues de l'entoblaste vitellin de quatre jours, en multiplication ralentie.

1. Les vacuoles sont polarisées le long d'un côté du noyau (comparer à la coloration vitale au rouge neutre, Pl. XXV, 9) ; quelques grains de sécrétion sont déjà au delà de la zone des vacuoles. — 2. Ceux-ci occupent surtout la place des vacuoles polarisées. — 3. Dans une cellule étalée, un groupe de vacuoles, ainsi que les grains naissants, sont répartis autour du noyau arrondi (24^e passage, Pl. : 1 g., TYRODE : 1 g., e. e. dilué : traces). (Da FANO).

sous l'aspect de fins grains noirs (fig. 20_{1, 2, 3}) les vacuoles du rouge neutre et, d'autre part, sous forme de sphérules noires plus grosses, envacuolées, les jeunes grains de sécrétion. Dans les cellules allongées, ceux de la première catégorie sont polarisés à côté du noyau ovale (fig. 20₁) ; ceux de la deuxième occupent la place du vacuome ou une autre, au delà (fig. 20_{2 et 1}). Dans les cellules étalées à noyau arrondi, les premiers sont en partie polarisés, mais quelques autres, ainsi que les grains naissants, se répartissent autour du noyau (fig. 20₃).

La planche XXVIII (fig. 1, 2, 3) résume l'évolution des enclaves élaborées par les cellules vitellines du type fibrocyte. La fixation selon DIETRICH-PARAT, suivie de la coloration à l'hématoxyline ferrique de REGAUD, puis au soudan III, après dissolution des glycérides, met en évidence les stades de la sécrétion. Les jeunes grains sont d'abord surtout basophiles ;

dans la suite, ils retiennent à la fois l'hématoxyline et, d'une façon plus intense, le soudan. Enfin, ceux évolués, principalement soudanophiles, ne sont plus imprégnés par l'argent, au moins dans la méthode de Da FANO.

Les granules apparaissent le long d'un côté du noyau, dans la zone de GOLGI (XXVIII, 1), grossissent, deviennent de plus en plus nombreux, tendent à s'accumuler dans la partie de la cellule dirigée du côté de l'explant. Celle-ci est bientôt complètement remplie et se libère de ses connexions d'avec les cellules voisines; elle s'arrondit à son extrémité et prend l'aspect d'un pôle d'accumulation (XXVIII, 2). Les grains de vitellus sont, en général, déjà fusionnées en enclaves, parfois assez grosses. La portion végétative de la cellule en contient quelques autres qui y ont été conduits par les mouvements du cytoplasme. Enfin, lorsque l'élément est très évolué (XXVIII, 3), sa taille est devenue beaucoup plus considérable; le pôle d'accumulation est hypertrophié, étant gonflé d'enclaves parfois très volumineuses. Leur fond, sur lequel se détachent des granulations brique, est teinté en jaune orangé par le soudan, moins énergiquement qu'il ne l'était dans les stades précédents. Le développement si considérable du pôle d'accumulation a pour résultat de repousser quelque peu le noyau de la cellule, en même temps que la zone de GOLGI. Dans la partie antérieure et étalée du cytoplasme, des grains retiennent plus intensément le soudan; cela semble indiquer qu'ils sont nés en dernier lieu.

Le chondriome est toujours très richement représenté par de longs filaments minces et flexueux, ne montrant jamais de figures de vésiculation. Ils peuvent être accolés aux sphères de vitellus, mais il n'y a là que des rapports de contiguïté; leur aspect ne varie pas au cours de la sécrétion.

La zone de GOLGI se développe dans la région du vacuome polarisé. Elle est essentiellement constituée par les vacuoles du rouge neutre, des chondriocontes et des lipines diffuses. Ceux-la restent grêles et sont seulement plus courts que ceux du cytoplasme végétatif; les lipines diffuses s'accumulent de plus en plus durant l'élaboration (XXVIII, fig. 1, 2, 3). Finalement, la zone retient d'une façon assez énergique le

soudan, après postchromisation, et même, dans une certaine mesure, l'hématoxyline au fer. Ses limites, tout d'abord relativement difficiles à discerner, deviennent d'une particulière netteté, lui attribuant une forme arrondie ou plus ou moins triangulaire. Dans les cellules étroites, elle est située le long d'un côté du noyau ovale et allongée dans le même sens qu'elles. Lorsqu'elles sont étalées, cette formation est disposée autour d'une partie plus étendue du noyau arrondi ; si les cellules sont triangulaires, elle occupe à la périphérie du noyau deux régions en rapport avec les deux prolongements cytoplasmiques principaux, acquérant ainsi une double polarité. Deux éléments allongés, réunis par un pont cytoplasmique, à leur région moyenne, ont leurs zones de GOLGI orientées en regard l'une de l'autre, respectivement à gauche et à droite de chacun des noyaux. Enfin, dans les cellules binucléées, une seule zone de grande taille occupe tout l'espace compris entre les deux noyaux. Il arrive aussi qu'elle soit située dans la concavité d'un noyau réniforme. Chez les éléments du type fibrocyte qui ne se multiplient plus et ont cessé de sécréter, on remarque parfois, à côté du noyau, une centrosphère bien développée ; celle-ci peut coïncider avec la zone de GOLGI ; mais il n'est pas rare de constater aussi que cette dernière et la centrosphère soient séparées par le noyau (Pl. XXVIII, fig. 4) ; ces deux formations existent, alors que cet organite semble près d'entrer en pycnose.

Les préparations cytologiques indiquent que le pôle d'accumulation est en même temps un pôle d'excrétion, d'où sont libérés des grains de vitellus isolés ou fusionnés en d'assez grosses enclaves, ou même issus de l'une d'elles, volumineuse, qui se rompt à la périphérie de l'amas. La place de celles qui viennent d'être excrétées reste assez souvent indiquée, dans le cytoplasme, par de petites lacunes plus pâles, dont le diamètre est comparable à celui de l'enclave correspondante et dans lesquelles peut persister un fin réseau lipinique.

Les coupes des cultures en croissance ralentie, dans les flacons, montrent une quantité d'enclaves de taille plus ou moins considérable, hors des cellules, entre les fibres et les faisceaux.

Le vitellus des grosses sphères accumulées dans les cellules est digéré ; il est transformé peu à peu en glycérides réfringents, teintés en rose par le bleu de Nil et en noir par l'acide osmique. Au cours de cette digestion, le deutoplasme devient colorable par le rouge neutre, dans la cellule vivante (Pl. XXV, fig. 10 à 13). Les stades obtenus rappellent ceux que nous avons étudiés lors de la digestion du vitellus dans les cellules épithéliales (p. 264) : grains uniformément rouge vif ou quelquefois roses, — enclaves plus grosses rouge vif, ou roses avec quelques boules de glycérides réfringents et incolores, — sphères roses avec quelques grains rouge vif, — grosses enclaves très digérées, réfringentes et incolores, avec seulement un halo, ou deux ménisques périphériques rouges.

Les cellules gonflées de deutoplasme et qui dégénèrent tendent à s'arrondir ; leur noyau devient pycnotique ; leur cytoplasme basophile se désagrège. Il ne s'agit pas d'une fonte holocrine, mais de dégénérescence.

C. — Compléments histochimiques.

Divers corps peuvent être identifiés dans le complexe jaune brun sécrété par les cellules vitellines devenues analogues à des fibrocytes ; on y retrouve ceux qui composent le vitellus analysé dans les colonies épithéliales (p. 266). Les réactions sont effectuées sur des cultures repiquées dans une goutte de plasma, coagulé par des traces d'extrait d'embryon, ou dans une de sérum, entre le trente-septième et le quarante-cinquième passage ; le vitellus originel a disparu dans les cellules depuis plus de trois mois.

Les grains de sécrétion, petits et moyens, s'illuminent en lumière polarisée ; les enclaves formolées conservent leur biréfringence. Celle-ci disparaît progressivement, lors de la digestion intracellulaire : par exemple, des boules s'illuminent seulement à leur périphérie, ou dans un segment ; après la transformation en glycérides, la biréfringence cesse. On caractérise des lipines (postchromisation, puis coloration à l'hématoxyline de KULTSCHITZKY ou au soudan III). Ce sont des lécithines. Elles prennent une teinte bistre, foncée pour les plus gros grains, après traitement par l'acide osmique et noircissent secondairement dans l'alcool à 70°. La

réaction iodophile de ROMIEU après dissolution du glycogène puis hydrolyse, celle de CASANOVA-PARAT (probablement phosphore des lécithines) sont positives (le phosphore est peut-être encore mis en évidence, après démasquage, par la réaction de MACCALLUM). La choline est révélée par la réaction des cristaux de FLORENCE après hydrolyse des lécithines.

Il existe, dans ces grains de sécrétion, du cholestérol (et vraisemblablement ses esters) (réactions de LIEBERMAN-ROMIEU à l'acide sulfurique-anhydride acétique, de CASANOVA-PARAT, de LEULIER et NOËL) ; une faible quantité d'acides gras (acétate de cuivre ; les granules récemment élaborés, situés près de la zone de GOLGI, se colorent en bleu par le bleu de Nil). On décèle encore un peu de glycogène (gomme iodée, carmin de BEST) ; des protéines [réaction xanthoprotéique, du biuret, de MILLOX (brique pâle), d'AXENFELD (violet foncé)] ; enfin, du fer (micro-incinération et, après démasquage, réactions du bleu de Prusse et d'ANDRÉ THOMAS et LAVOLLAY).

Lorsque les grains de sécrétion sont passés, par digestion, à l'état de glycérides colorables en rose par le bleu de Nil, les réactions qui viennent d'être énumérées sont négatives.

En milieu plasma-blanc d'œuf, tout se passe comme si l'ovalbumine fournissait un apport protéique au produit de sécrétion.

Une série de cultures de cellules vitellines devenues analogues à des fibrocytes, au vingtième passage, ne contenant plus de vitellus originel, est cultivée en flacons de CARREL, dans un coagulum de plasma et nourrie au plasma hépariné. Après dix-neuf jours, neuf de ces colonies ne sont plus alimentées qu'avec de l'albumine d'œuf. Les cellules que l'on continue à soigner avec du plasma hépariné sont inégalement remplies de deutoplasme, qu'elles sécrètent et dont la digestion intracellulaire est souvent complète ; elles sont parfois géantes et assez espacées au bord de l'auréole de croissance (fig. 18₁). Dans le lot traité par l'ovalbumine, elles restent disposées d'une façon plus dense et plus régulière (fig. 18₂) et sont, en général, à peu près toutes remplies également de vitellus néoformé.

Des séries de cultures du type fibrocyte sont ensemencées en goutte pendante, soit en plasma, soit en plasma-ovalbumine à parties égales. Dans ce dernier cas, la croissance est moins forte, les cultures plus denses, les grains moins vite

digérés. Leur basophilie et surtout celle des enclaves est nettement augmentée.

Comparons enfin les résultats obtenus en effectuant les réactions des protéines sur les deux catégories de cultures en goutte pendante. En milieu plasma-ovalbumine, les réactions de MILLON, xanthoprotéique et du biuret, sont nettement plus intenses au niveau des grains et des enclaves qu'en milieu plasma seul. Pratiquons, dans les deux cas, la réaction d'AXENFELD à l'acide formique et au chlorure d'or ; elle donne des teintes différentes suivant les corps qu'elle tente de caractériser, par exemple : rouge pourpre pour la créatinine, l'urée, l'acide urique, violet pour la guanine. En tubes à essais, le blanc d'œuf donne une réaction pourpre foncé, le jaune d'œuf une réaction violet bleu. Dans les cultures en plasma, la teinte est violet foncé, dans celles en plasma-ovalbumine, violet rouge très intense, avec présence de grains et surtout d'enclaves nettement rouge violacé, comme si l'ovalbumine avait participé à l'élaboration de ce vitellus.

Il paraît donc, par l'augmentation de la basophilie et de l'intensité des réactions des protéines (en partie par une variation qualitative), que la présence d'ovalbumine dans le milieu de culture contribue à augmenter la teneur des grains de vitellus sécrété en substances albuminoïdes.

DISCUSSION DE LA PREMIÈRE PARTIE.

Elle porte sur trois groupes de faits qui prennent leur signification à la lumière de l'ensemble des résultats obtenus.

D'autres, particuliers, ont été discutés précédemment et interprétés : les caractéristiques de la croissance des colonies, la digestion et la structure des enclaves de vitellus, les modes de multiplication, la nature et l'origine des fibres édifiées par l'épithélium.

L'examen critique des phénomènes nucléaires observés est réservé pour la quatrième partie de cette étude.

A. — Sur les propriétés histophysiologiques générales de l'épithélium vitellin cultivé et leur transformation.

L'isolement de l'épithélium vitellin est effectué par voie anatomique ; les cultures de ce tissu sont pures d'emblée, ce

qui est évidemment une condition idéale : le fragment explanté ne contient que l'entoblaste, grâce à la technique que j'ai indiquée (1933). La pureté des souches est, au surplus, démontrée expérimentalement. Lorsqu'on ensemence des fragments de l'aire vasculaire, composée par les trois feuilletts embryonnaires, la croissance rapide de la mosaïque épithéliale inhibe, dès le début, celle des fibrocytes (*contra* Z. GRODZINSKI, 1934) ; bien entendu, les conditions techniques doivent permettre à l'épithélium de proliférer intensément ; ce n'est que secondairement que les fibrocytes entrent en multiplication.

a. *Énergie de croissance*. — On sait que la croissance d'une culture de tissus, dans un milieu dépourvu de substances directement utilisables, est en rapport avec la quantité de produits nécessaires mis en réserve par les cellules : c'est la *croissance résiduelle* (CARREL, 1923) qui est exprimée par une courbe et dont la valeur caractérise, jusqu'à un certain point, les variétés de tissu (PARKER, 1929) ; elle est proportionnelle à l'énergie intrinsèque de croissance (CARREL, 1924), qui n'est pas directement mesurable.

EPHRUSSI (1931-1933), partant des travaux des auteurs sur les groupements sulfhydrilés, cherche quelle est la signification de cette énergie résiduelle ; il en donne une interprétation. RAPKINE (1930), en particulier, admet que l'augmentation des radicaux-SH solubles (glutathion), décelée au moment où les cellules vont se diviser, serait due à une libération des groupements-SH protidiques fixes ; celle-ci résulterait d'un certain degré de dénaturation des lipoprotéines du protoplasme. En effet, il est démontré que les protéines en dénaturation (lorsqu'elles sont précipitables au point isoélectrique) libèrent des radicaux-SH ; pour plusieurs travailleurs, cette dénaturation est réversible et physiologique. Or, le glutathion disparaît dans les cultures de fibrocytes à mesure que la croissance se ralentit ; il n'y est plus décelable quand l'énergie de croissance est épuisée. Mais, par dénaturation des protéines (ébullition en milieu acide), la réaction des groupements-SH fixes est renforcée chez les cultures en croissance active et reste négative chez celles où elle est arrêtée. Il y aurait disparition des substances protéiques capables de fournir, dans ces conditions, des radicaux-SH par dénaturation. Ce fait serait la cause réelle de l'épuisement de l'énergie résiduelle ; toutefois, il paraît vraisemblable que d'autres substances aient aussi disparu à ce moment.

Le raisonnement d'EPHRUSSI est justifié par les résultats obtenus sur les colonies de fibrocytes. Il semble qu'il n'en aille pas de même avec ceux que permettent d'établir, dans des milieux dépourvus de facteurs de croissance, les cultures d'épithélium vitellin. La réaction au nitroprussiate de sodium y décèle aisément, mais après réduction par le cyanure de potassium, des groupements-SH solubles. On en conclut que les corps mis en évidence de la sorte (glutathion réduit, cystéine) existent dans les cultures sous leur forme oxydée-SS. Au cours du développement des colonies, la réaction est initialement intense en général, s'affaiblit dans la suite, mais persiste néanmoins d'une façon certaine plusieurs jours après que la croissance est arrêtée. D'autre part, *les groupements en-SH liés aux protéines sont caractérisés pendant toute la durée de la vie de chaque culture épithéliale en goutte pendante*, alors que la prolifération a cessé le quatrième jour. Il est extrêmement probable que ces radicaux-SH insolubles proviennent, pour la majeure partie, des protéines du deutoplasme dénaturées pendant la digestion et, pour l'autre partie, de celles du protoplasme riche en zones d'hydrolyse (car la réaction est encore nettement positive, alors qu'il reste assez peu d'enclaves donnant les réactions habituelles des protéines). Ces radicaux-SH fixes sont, peut-être, la source des groupements solubles qui sont rapidement oxydés à l'état de disulfures. Mais la libération s'opère dans l'endoplasme ; il semblerait assez invraisemblable que ces corps solubles ne pussent être utilisés en quantité suffisante à l'état réduit, au moins lors de leur apparition et pendant la période de prolifération cellulaire. En outre, R. WURMSER remarque (1930) : « Mais l'aptitude du glutathion à passer aisément de la forme disulfurée à la forme sulfhydrilée et inversement suggère plutôt que ce corps joue un rôle de transporteur d'hydrogène.

« En présence des métaux catalytiques, le groupement sulfhydrilé du glutathion est apte à céder son hydrogène à l'oxygène moléculaire. Pour pouvoir accélérer le métabolisme, il suffit que le glutathion soit dans des conditions lui permettant de repasser de la forme disulfurée à la forme sulfhydrilée. Ces conditions semblent réalisées dans la cellule. HOPKINS

fait remarquer que, si le glutathion, sous sa forme oxydée, n'est pas *in vitro* un autoxydateur en milieu acide, par contre, en milieu alcalin ou neutre, il est constamment réduit par les donateurs d'hydrogène en présence des déshydrases des tissus et peut alors exercer son action catalytique. » Le pouvoir autoxydateur du glutathion dépend de la présence simultanée de métaux catalytiques (le fer notamment) et d'un facteur additionnel. D'après HOPKINS et DIXON (1922) (*in* WURMSER), du glutathion légèrement impur catalyse l'oxydation des protéines et, à l'état de traces, *in vitro*, celle des acides gras non saturés, qu'il s'agisse d'esters de la glycérine, ou qu'ils soient engagés dans des combinaisons telles que les lécithines.

L'abondance des groupements-SH décelés peut, semble-t-il, être mise en rapport, d'une part, avec l'autoxydation des enclaves de vitellus contenant, dans un milieu en grande partie alcalin, du fer, des protides et des lipides variés (il est intéressant de mettre en parallèle, au cours de la digestion, les résultats des réactions des peroxydases et des phénolases d'abord nuls, puis faibles, et ceux de la réaction plasmale longtemps intenses, ensuite faibles et nuls) et, d'autre part, avec l'intensité énorme de la croissance des cultures (1). Nous avons vu que celles-ci, en milieu dépourvu de substances excitant la croissance, atteignent une taille supérieure à celle de tous les autres épithéliums cultivés en présence d'extrait embryonnaire à une concentration optima. Il faut admettre : *ou que la disparition de matières protéiques capables de fournir des groupements-SH est loin de jouer, à elle seule et dans tous les cas, le rôle principal, lors de l'épuisement de l'énergie résiduelle ; ou que les radicaux sulfhydrylés libérés ne puissent plus être utilisés, à un certain moment, par suite de l'accumulation progressive de substances inhibitrices.*

FISCHER, LASER et MEYER (1930) ont montré que des cultures d'une souche épithéliale cancéreuse ne régénèrent pas. EPHRUSSI et A. LITVAK (1934), étudiant la répartition spatiale des mitoses, ont été amenés à se demander si le défaut de la régénération n'est pas commun aux cultures épithéliales. Les colonies d'épithélium vitellin possèdent à un haut degré,

(1) Bien que la multiplication devienne, plus ou moins rapidement, amitotique.

dans leur ensemble, la faculté d'autorégénération, au moins après liquéfaction et sans traitement ultérieur. Il en est ainsi, dans une certaine mesure, des nappes épithéliales issues par exemple du poumon (VERNE).

b. *Propriétés physiologiques.* — L'étude des propriétés physiologiques générales de la cellule vitelline a montré qu'elle phagocyte les grains d'encre de Chine comme l'a bien vu Z. GRODZINSKI (1930). Elle accumule, en outre, plus ou moins intensément, le trypano-bleu et le carmin lithiné. Ces produits sont retrouvés dans les sphères de deutoplasme en digestion ; les cellules dont les enclaves ne sont pas digérées, ou au contraire le sont presque complètement, ont un pouvoir d'accumulation faible ou nulle. *La présence du vitellus en digestion dans l'endoplasme paraît donc être responsable, en grande partie, des propriétés athrocytaires et accumulatrices de la cellule vitelline* (nous discuterons p. 395 des fonctions attribuées à l'entoblaste vitellin *in vivo*). GRODZINSKI considère la propriété de capter l'encre de Chine, les variations de forme des éléments isolés, comme conférant à la cellule vitelline des propriétés macrophagiques. Nos résultats, en ce qui concerne le trypano-bleu et le carmin lithiné (joint à la possibilité d'utilisation partielle des protéines du sérum) semblent favorables à cette interprétation. Toutefois, il faut remarquer que cette cellule, dans les mosaïques épithéliales, ne phagocyte pas les érythrocytes ; d'autre part, il convient de prendre garde que les variations d'aspect, observées quelque temps à la périphérie des cultures ou dans les zones liquéfiées, ne sont que des apparences trompeuses, qu'il s'agisse d'éléments allongés ou arrondis. L'étude des transformations durables analysées dans ce travail montre précisément (deuxième partie) que *la cellule vitelline est en réalité fort différente des éléments qui en proviennent à la suite d'une multiplication particulière et qui sont dès lors analogues à de véritables macrophages*. En plus de différences profondes de structure, de comportement et de fonction, on peut remarquer, lorsque les colorants sont ajoutés aux colonies au cours de la deuxième moitié de leur développement, que la cellule épithéliale manifeste à peine ses capacités, liées à la présence du vitellus, dans un laps de

temps bien supérieur à celui utilisé par les macrophages pour démontrer les leurs.

Les cellules vitellines en culture ont toutes la fonction de sécréter des ferments protéo et lipolytiques, car nous avons établi *qu'elles digèrent toutes complètement le vitellus de leur endoplasme; ces propriétés s'exercent au maximum lorsqu'elles sont le plus chargées d'enclaves* (1). En outre, il est intéressant de constater que *l'épithélium vitellin libère des protéases dans le liquide de culture, puisque celui-ci digère progressivement des érythrocytes; il en est de même des lipases, car le vitellus ajouté paraît en digestion* (liquéfaction, teinte pâle).

c. *Transformations histophysiologiques.* — L'obtention de la culture pure durable de l'épithélium vitellin (1933) a permis de suivre directement une transformation profonde et intéressante de la forme et des fonctions générales de ses cellules. Originellement syncytiaux,¹ les éléments acquièrent une autonomie définitive, ce qui démontre le bien-fondé de l'opinion de G. LEVI sur l'individualité latente des cellules dans un syncytium. Ils constituent une mosaïque épithéliale, puis s'entourent chacun d'une large lame hyaloplasmique, se disjoignent, enfin se disposent en un réseau. Celui-ci ne représente pas le début de la dégénérescence, comme l'a cru Z. GRODZINSKI (1930), mais un stade évolutif,

(1) D'après GRODZINSKI (1933), les cultures de cellules marginales des disques germinatifs sans embryon liquéfient toujours le milieu; celles de la partie centrale ne le font jamais. Ces disques obtenus expérimentalement (grâce à l'action du refroidissement) peuvent être identifiés aux aires vitellines externe et interne. Or, d'après l'auteur, l'aire externe seule, chez les embryons de deux à quatre jours, liquéfie le milieu; il en tire la conclusion qu'elle sécrète seule des protéases. Ultérieurement Z. GRODZINSKI a bien voulu m'écrire (juin 1934): « Continuing nowadays my experiments I went to the conclusion, that all cells of yolk sac are secreting ferments under condition, that they dont contain big yolk spheruls. » Il est possible que Z. GRODZINSKI ait été conduit à modifier depuis son interprétation sur le dernier point. En tout cas, nous avons vu que les résultats de l'analyse histochimique paraissent en opposition avec sa théorie de 1934. Nous remarquerons, tout d'abord, que la liquéfaction d'un coagulum de fibrine par des cellules en culture ne permet pas de conclure d'une façon certaine que celles-ci élaborent *normalement* des protéases. Nous avons considéré, d'autre part, à la suite de l'examen de plusieurs milliers de cultures d'épithélium vitellin, prélevé dans toutes les parties de l'aire avasculaire, que les variations individuelles des cellules épithéliales portent surtout sur leur taille, corrélative du volume de leurs enclaves, mais pas sur la nature de leurs propriétés physiologiques.

directement en rapport avec la digestion intracellulaire des enclaves. Le bord épithélial est rompu, les grandes cellules vitellines émigrent, s'allongent en fuseau, se multiplient activement à *nouveau* par caryocinèse, s'enfoncent dans l'épaisseur du coagulum nutritif où elles forment un feutrage. Après le sixième passage en goutte pendante, le deutoplasme a disparu. *Les souches cellulaires que l'on entretient dès lors, et dont on a suivi directement à l'état vivant, stade par stade, l'évolution à partir d'un épithélium, sont devenues à ce point analogues à des lignées de fibrocytes que l'examen général des bonnes colonies fixées — alors qu'elles étaient en multiplication active — puis colorées, ne permet pas de faire à coup sûr la distinction entre cellules vitellines transformées et fibrocytes mésenchymateux.* Il ne s'agit pas simplement, en effet, d'un allongement des éléments périphériques comme on l'observe dans les cultures de nombreux épithéliums (Voir p. 216); la transformation est plus profonde et porte non seulement sur la disposition histiotypique de la colonie, mais aussi sur la structure cytologique et les propriétés physiologiques générales.

La technique de culture des cellules vitellines transformées n'est plus celle qui était nécessaire à l'épithélium; les colonies s'entretiennent à la manière des fibrocytes mésenchymateux. Leur survie paraît indéfinie : *l'expérimentation révèle la pérennité potentielle des cellules vitellines, malgré les modifications qu'elles subissent et bien que, normalement, in vivo, elles dégèrent lorsqu'est résorbé le sac vitellin.* L'architecture si typique des faisceaux collagènes dans les cultures épithéliales devient aussi celle des colonies mésenchymateuses.

Les cellules vitellines du type fibrocyte respirent dans le plasma coagulé, n'accumulent ni l'encre de Chine, ni le trypano-bleu, ni le carmin lithiné; elles se chargent d'enclaves grasses (où l'on caractérise des lipines) provenant de la digestion et de l'absorption du vitellus déposé sur les colonies (la phagocytose de ce produit, sous forme de grains entiers, n'est pas certaine; toutefois ceux-ci peuvent être digérés rapidement après avoir été phagocytés). Les propriétés digestives et sécrétoires persistent toujours à l'état potentiel

chez les cellules vitellines transformées, quoique dépourvues de toutes leurs enclaves originelles.

Alors que l'épithélium est doué d'une extraordinaire intensité de croissance en membrane (émigration en masses par mouvements cellulaires actifs), les colonies de cellules du type fibrocyte prolifèrent selon un rythme analogue à celui des fibrocytes conjonctifs, dont elles acquièrent le mode de translation individuel. Leur surface finale, au 6^e jour, en présence d'extrait embryonnaire, est plus de quatre fois plus petite que celle de l'épithélium ; elles perdent la propriété d'utiliser en partie les protéines du sérum ; leur énergie résiduelle de croissance diminue de plus de cinq fois, leur pouvoir fibrinolytique disparaît. *La variation subie par les cellules atteint donc la forme, la structure histiotypique, les propriétés physiologiques générales, le mode de nutrition et les caractères de la croissance* ; elle est en rapport avec l'utilisation du deutoplasme. Cependant, la disparition des réserves ne semble pas être la cause unique de tous les faits observés.

D'après KATZENSTEIN et KNACKE (1931), etc..., des produits agissant sur la tension superficielle favorisent le développement des épithéliums aux dépens du tissu conjonctif. Des substances (choisies pour des raisons physiologiques), utilisées à des concentrations optima, ont une action inégale sur l'évolution de l'épithélium vitellin ; l'oléate de sodium, avec ou sans addition de cholestérol, des ammoniums quaternaires, modifient peu sa structure ; les acides la laissent inchangée, mais la soude, la potasse, la baryte, le venin de *Cobra*, provoquent rapidement la rétraction de l'hyaloplasme, la disposition en réseau, la disparition du bord épithélial et jusqu'à l'individualisation des cellules. Les lames hyaloplasmiques renferment des lipines (comme cela a été décrit sur d'autres objets : FAURÉ-FRÉMIET, 1929 ; VOLKONSKY, 1932), pouvant subir la lipophanérose. Ces corps jouent certainement un rôle très important lors de la rétraction (1) : l'hyaloplasme devient

(1) La formation et le maintien des lames hyaloplasmiques seraient assurés par une tension interfaciale négative entre l'hyaloplasme et le milieu (FAURÉ-FRÉMIET, 1926) ; une poussée interfaciale négative (tension interfaciale positive) provoquerait leur rétraction (VOLKONSKY, 1933).

aussitôt basophile. On peut considérer que l'action très marquée de substances saponifiantes sur l'équilibre des lames hyaloplasmiques des cellules vitellines épithéliales est peut-être en rapport, dans une certaine mesure, avec leur richesse en lipines démasquables (1). D'autre part, l'étalement de l'exoplasme en lames hyalines paraît résulter de l'action d'une substance formée au cours de la lipolyse. Remarquons, en effet, que l'épithélium vitellin, le plus riche d'enclaves lipidiques en digestion, est celui où les cellules émettent les lames hyaloplasmiques les plus étalées ; vient ensuite l'épithélium pulmonaire, qui a une fonction lipolytique importante et dont les cellules constituent d'assez larges lames hyalines. Cependant la structure en membrane de l'épithélium vitellin ne dépend pas uniquement de la présence du deutoplasme et du développement des lames hyaloplasmiques. *Il semble y avoir de plus un facteur propre de coalescence qui échappe actuellement à l'analyse et caractérise l'état épithélial en mosaïque.* En effet, d'une part, les cellules vitellines qui ont acquis le type fibrocyte ne récupèrent pas la structure épithéiotypique, ni spontanément, ni lorsqu'on les met en présence de vitellus, ni lorsqu'elles sécrètent elles-mêmes un produit comparable à celui-ci ; d'autre part, il en est de même, comme nous le verrons, quand elles sont passées à l'état de macrophage. Dans ce cas, les phénomènes de transformation étant achevés, les larges membranes ondulantes des éléments contigus, dans les

(1) D'après LÉO LOEB (1920-1921), FAURÉ-FRÉMIET (1925, 1929), les cations qui modifient l'état de cohésion du protoplasme provoquent des variations des lames hyaloplasmiques. Les métaux divalents créent des membranes de précipitation (CHAMBERS, 1926, CHAMBERS et REZNIKOFF, 1926, etc...). VOLKONSKY (1933) considère qu'on pourrait expliquer directement la formation de membranes péricellulaires lipoidifères, si l'on admettait que les lipoides sont sensibles à l'action coagulante des métaux à un degré plus élevé que les protéines. Que l'effet produit par les cations soit direct ou indirect, il n'est pas sans intérêt de considérer qu'il y a peut-être variation de l'équilibre cellulaire en général et des lames hyaloplasmiques en particulier à la suite d'un échange de cations. J. LAVOLLAY (1936) est arrivé, en effet, à la conclusion séduisante et riche de perspectives que : « relativement à la fixation d'un cation, la matière vivante, ou tout au moins une fraction de celle-ci, se conduit à la manière des permutes ou des colloïdes humiques. » Il vient naturellement à l'esprit d'établir un rapprochement entre cette conception et celle qui résulte des travaux de HEVESY (1921), de KROGH et leurs collaborateurs, sur l'échange des isotopes dans l'organisme, plomb et phosphore radioactifs, etc...

populations secondaires denses, ne se soudent normalement pas (1). Si l'on admet que le bord des cellules épithéliales est imbibé d'une substance particulière, responsable de l'adhérence des éléments les uns aux autres et réduisant le nitrate d'argent (W. LEWIS, G. LEVI), il faut supposer que les cellules vitellines perdent la propriété d'élaborer un tel produit lorsqu'elles se transforment.

B. — Sur l'évolution des constituants figurés du cytoplasme au cours de la digestion des enclaves, de la transformation des cellules et de la sécrétion.

L'analyse cytophysiologique permet de distinguer trois étapes principales au cours de l'évolution de l'épithélium vitellin *in vitro* : α . le tissu épithélial digère les enclaves vitellines dont il est chargé lors de la mise en culture ; β . les cellules se transforment et, dépourvues de deutoplasme, prennent le type fibrocyte ; γ . elles sécrètent de nouveau des enclaves lorsqu'elles sont dans des conditions favorables à leur activité élaboratrice. Au cours de ces trois étapes, les constituants figurés du cytoplasme subissent des variations intéressantes ; il est possible de rapporter avec exactitude les modifications de la forme à celles de la fonction des cellules. Cette discussion, surtout en ce qui concerne les vacuoles et l'appareil de GOLGI, ne peut tenir compte de tous les groupes de faits ou d'hypothèses accumulés. Nous ne ferons qu'établir des rapprochements sommaires entre nos résultats et quelques théories.

α . Période de digestion des enclaves. — Les variations portent sur le système de vacuoles, principalement, et sur le chondriome.

Les vacuoles de la cellule vitelline en culture ont été étudiées longuement par Z. GRODZINSKI (1930). Elles sont visibles au début de la migration et deviennent plus nombreuses, sont colorées vitalement par le rouge

(1) Les membranes ondulantes des macrophages vitellins (deuxième partie) sont nettement différentes des lames hyaloplasmiques des cellules épithéliales, même isolées, et ne peuvent être confondues avec elles.

neutre et le bleu brillant de crésyl, remplies d'un fluide colloïdal protéique plus alcalin que le milieu (entre pH 7 et 7,4). Relativement indépendantes de la composition du milieu, elles sont pourtant moins abondantes en plasma que dans les solutions de LOCKE et de LOCKE-LEWIS. Des granulations, de même que des particules d'encre de Chine phagocytées, sont agitées du mouvement brownien dans les vacuoles. Les grains d'encre s'arrêtent ensuite, ce qui proviendrait de la coagulation du contenu protéique ; le même effet est obtenu par la coloration vitale au rouge neutre. Elles sont recouvertes d'une couche ou réseau lipoïdique, peuvent s'allonger en canaux qui se fragmentent en petites vacuoles et fusionnent ultérieurement. Enfin, les enclaves de vitellus, d'après l'auteur, sont des vacuoles remplies de granules de graisses suspendus dans un fluide protéique.

GRODZINSKI décrit, dans la cellule vitelline, *in vitro* et *in vivo*, sous le nom de vacuoles, sans faire de distinction entre elles, un ensemble de formations qui ne semblent pas avoir la même signification; il désigne ainsi, en bloc, les enclaves vitellines en digestion et les zones d'hydrolyse qui en résultent ; le vacuome proprement dit de la cellule lui échappe. Il distingue, cependant, d'une façon théorique, partant des conceptions de W.-H. LEWIS, quatre sortes de vacuoles : de ségrégation, alimentaires de sécrétion, réactionnelles ; ce sont des formations temporaires, toutes analogues, mais dont les fonctions varient.

Nous avons vu en détail que la cellule vitelline chargée d'enclaves, dans les colonies épithéliales, est pourvue de trois catégories de formations prenant le rouge neutre, dans les conditions optima requises de la coloration vitale : petites vacuoles peu nombreuses entourant le noyau, sphères de vitellus en digestion, donnant, selon leur degré d'hydrolyse et la répartition de leurs matériaux, des images très variées ; enfin, zones d'hydrolyse bordant en tout ou en partie les enclaves en digestion avancée. Les petites vacuoles et les zones d'hydrolyse néoformées ne contiennent, semble-t-il, qu'un liquide protéique où le colorant pénètre rapidement, puis s'accumule sous forme de grains. La structure de même que l'évolution des enclaves deutoplasmiques lors de la digestion ont été discutées (p. 287). Rappelons seulement que le vitellus non digéré ne prend pas le rouge neutre ; mais la coloration du complexe lipoprotéique *lui-même* apparaît au cours de l'hydrolyse, dessinant des images de sphères, de croissants, etc..., analogues à celles données par le vitellus en digestion dans divers ovules et blastomères de plusieurs animaux et par les vacuoles rhagiocrines.

Comme l'ont admis GRÆPER, VON MÖLLENDORFF, PARAT, etc..., la diffusion dans le cytoplasme de produits solubles résultant de la digestion du vitellus semble correspondre à la formation de grains ou de zones colorables au rouge neutre. Mais il paraît hors de doute que ce colorant décèle normalement des formations ou substances paraplasmiques existant dans la cellule, ainsi que l'a montré VON MÖLLENDORFF (Voir encore son affirmation récente, 1935), confirmé par de nombreux auteurs. On observe aisément, dans les quelques minutes qui suivent l'addition aux cultures du rouge neutre très dilué, l'évolution rapide de la coloration des grosses enclaves en digestion et des zones d'hydrolyse. Dans ces dernières, principalement, la précipitation en granules paraît correspondre à une floculation du complexe formé par un colloïde protéique et le colorant basique. Toutefois, l'idée qu'il s'agit d'une réaction électrochimique entre deux colloïdes de charge électrique opposée (VON MÖLLENDORFF, 1920) ne rend peut-être pas compte de tous les faits de la coloration vitale basique (ainsi que le remarque VOLKONSKY, 1933) : les enclaves en digestion teintées par le rouge neutre ont des parties, les unes acidophiles, les autres basophiles. Lorsque l'accumulation se poursuit (elle peut survenir très rapidement), la précipitation des granules augmente : c'est le stade *crinome* de CHLOPIN. Dans ce cas, les images obtenues ne correspondent pas à la structure normale de la cellule (VON MÖLLENDORFF, PARAT et son école, etc...); il s'agit d'une altération (1).

Les petites vacuoles périnucléaires, à partir desquelles peuvent se développer des lacunes de liquéfaction cytoplasmique, les vacuoles contenant du vitellus en dégradation, les zones d'hydrolyse néoformées paraissent être un lieu d'élaboration de ferments et de digestion active. Ces constatations sont en accord avec la théorie de KEDROWSKI (1932), selon laquelle le vacuome contient en permanence des ferments protéolytiques ; la présence de ces enzymes expliquerait l'affinité

(1) Le *crinome* serait formé, pour KEDROWSKI (1932), par la réaction « électrochimique » du colorant vital basique et des protéases inactivées qui se dégagent du protoplasme pendant l'action de celui-ci. Le produit serait déposé dans le vacuome, jusqu'à l'élimination de toutes les protéases inactivées.

de celui-ci pour les colorants vitaux basiques et les métaux comme l'argent et l'osmium. De plus, le même auteur montre, (sur des érythrocytes de Grenouille (1935), que des produits de la digestion des albumines provoquent une augmentation du nombre et de la colorabilité des vacuoles par les teintures vitales basiques. L'accroissement des formations prenant vitalement le rouge neutre, qui, chez des éléments ayant une activité physiologique de même ordre, dépend, dans une certaine mesure, de la composition du milieu de culture (par exemple, de l'apport d'extrait embryonnaire augmentant l'accumulation des produits de métabolisme : CARREL et EBELING, 1926, etc.) (1), est en relation directe, chez les cellules vitellines, avec la vitesse de digestion des enclaves. Lorsque cette digestion est particulièrement rapide, en milieu liquide contenant de l'extrait, elles se colorent toutes très vite par le rouge neutre ; les zones d'hydrolyse sont de même très accrues.

Les enclaves de vitellus, bien que très digérées et transformées presque complètement en glycérides, sont entourées fréquemment, après fixation, d'une mince pellicule lipinique ; cette enveloppe des vacuoles, vue par quelques auteurs dans les cellules cultivées (ZWEIBAUM et ELKNER, 1926; RUMJANTZEW, 1928; GRODZINSKI, 1930, etc...), doit participer, si elle existe dans la cellule vivante, à l'activité physiologique du vacuome ; celui-ci, d'autre part, est inclus dans une zone lipinique, surtout lorsqu'il est polarisé (PARAT, 1928, etc...).

Le chondriome de la cellule vitelline, pendant la phase de résorption des enclaves, subit peu de modifications : les chondriocontes restent longs et grêles autour des masses deutoplasmiques ; entre elles, ils sont fragmentés en mitochondries ; il en est ainsi, en général, lors de l'accumulation dégénérative des graisses (ZWEIBAUM, 1933).

La zone de GOLGI est à peine reconnaissable près du noyau.

§. *Période de multiplication des cellules transformées.* — La résorption totale des enclaves, corrélative de la variation des cellules vitellines qui acquièrent le type fibrocyte, est mar-

(1) De même, G. LEVI (*in discussion* ZWEIBAUM, 1937). Il est du reste aisé de faire apparaître, *in vitro*, de nouvelles vacuoles dans les cellules vivantes sous l'influence du sucre de Canne, ou de sels comme KSCN, KI, KBr, KCl, (MÖLENDORFF, 1935) ou NH_4Cl (ZWEIBAUM, 1937), ou du chlorhydrate de triméthylamine (ANDRÉ THOMAS, 1936) ; dans ce dernier cas, la dégénérescence se poursuit jusqu'à la formation de lacunes de grande taille occupant tout le cytoplasme.

quée par la disparition des zones endoplasmiques d'hydrolyse, colorables au rouge neutre. Il ne persiste qu'un groupe de petites vacuoles, décelées vitalement par la coloration basique, mais, cette fois, polarisées d'un côté du noyau. Ces quelques vacuoles ne sont nullement l'indication d'un processus de dégénérescence ; elles sont l'expression du métabolisme normal : elles constituent le vacuome proprement dit. Il en est ainsi lors de la résorption du vitellus pendant la segmentation de l'oocyte (PARAT, 1928 ; KÆHRING, 1930, etc...).

Le chondriome n'est pas modifié, il s'oriente seulement dans le sens de la longueur de la cellule. Le cytoplasme ne comporte pas d'autres formations figurées, à part quelques boules de graisses. La zone de GOLGI est inapparente.

∴ *Période de sécrétion.* — Lorsque les cellules dépourvues d'enclaves de vitellus commencent à en sécréter de nouvelles, comparables qualitativement à celles dont elles étaient initialement chargées, on observe une modification progressive du vacuome et de la zone de GOLGI. Les grains de sécrétion apparaissent dans les éléments périphériques du groupe vacuolaire polarisé à côté du noyau. Des chondriocentes sont disposés entre les vacuoles ; des lipines diffuses s'amassent autour d'elles. Ainsi s'individualise, selon l'expression et la conception de PARAT, *une zone de GOLGI*. Lorsque, à la périphérie de cette zone, les grains de sécrétion sont concrétés dans les vacuoles, celles-ci perdent leur colorabilité par le rouge neutre (de même, sur d'autres objets : PARAT, 1928 ; HIRSCH, 1931, etc...). Quand les grains, grossis et mûris, sont devenus par coalescence des enclaves lipoprotéiques remplissant la cellule, entrant en digestion, prenant en partie le rouge neutre, la zone de GOLGI augmente notablement de surface ; elle reste dense, assez bien limitée, très chargée de lipines, un peu basophile et ne constitue pas un réseau. Elle est parfaitement visible à l'état vivant, sans coloration ; elle a été photographiée directement ; sur film cinématographique, elle apparaît comme déformable, mais ne se laisse pas dissocier par le jeu des grains de sécrétion. Elle est unique dans chaque élément à un seul noyau ; elle est déplacée avec cet organite au

cours des mouvements du cytoplasme ; elle persiste même lorsque la cellule commence à dégénérer (1). C'est, globalement, la région la plus réductrice du cytoplasme, ce qui est peut-être dû, dans le cas particulier, à sa forte teneur en lipines.

Les lipines de la zone de GOLGI proviennent du cytoplasme fondamental, enrichi lui-même par la résorption des enclaves. Le degré de surcharge de la zone est en rapport avec la quantité de lipines libérées dans le cytoplasme alentour. Le fait est d'une grande évidence : chez les cellules vitellines en multiplication active, n'élaborant pas, l'accumulation lipinique dans la zone est inapparente, bien que les vacuoles soient polarisées. Chez les éléments sécrétant, puis digérant leurs enclaves, la surcharge devient peu à peu considérable ; toutefois, cette substance de GOLGI ne se fragmente pas en vésicules ou corps séparés. Par contre, les chondriocotes situés entre les vacuoles, au sein des lipines diffuses (*chondriocotes actifs* de GUILLIERMOND et de PARAT), ne sont pas modifiés ; ils sont un peu plus courts que dans le reste du cytoplasme, ce qui est expliqué suffisamment par leur situation ; ils ne subissent pas de *pachynèse* (selon la terminologie de PARAT), ne constituent pas de corps en écailles analogues aux *lépidosomes* des cellules sexuelles. Ils demeurent plus ou moins accolés aux vacuoles élaboratrices, mais ni à ce stade, ni plus tard, ne participent morphologiquement à la sécrétion. La transformation de la totalité d'un grain de sécrétion, surtout protéique, en grain lipoprotéique est rapide ; les images de corps à périphérie basophile ressemblant à des dictyosomes (*vrais dictyosomes*) sont assez rares.

L'achèvement de la synthèse des matériaux préparés semble donc se poursuivre dans les vacuoles. D'après KEDROWSKI (1932), quand leur contenu s'appauvrit en eau, les processus protéosynthétiques commencent à y prévaloir ; l'activité des

(1) Il n'est pas rare de voir apparaître des centrosphères dans les cellules vitellines transformées et qui ont sécrété abondamment des enclaves. Ces centrosphères, liées probablement à un certain degré de dégénérescence ou d'autolyse (ce qui dans certains tissus provoque des ondes ou des explosions de mitoses), peuvent être situées au pôle nucléaire opposé à la zone de GOLGI.

Ajoutons que le noyau ne contient jamais d'enclaves grasses, comme BRANCA l'a vu dans l'entoblaste vitellin des Mammifères.

protéases du vacuome deviendrait constructrice. *La digestion ultérieure des enclaves, dans les grandes formations vacuolaires qui dérivent des éléments élaborateurs primitifs du vacuome, est un autre exemple d'une réversibilité d'action diastasique dans ce système* (aussi bien des lipases que des protéases), probablement sous l'influence d'un nouveau régime d'hydratation (V. KØHRING, 1930 ; KEDROWSKI, 1932 ; VOLKONSKY, 1933).

La cellule vitelline, chez la Poule, est, en somme, un élément glandulaire dont le fonctionnement est d'aspect simple, surtout par rapport aux phénomènes d'élaboration dans l'ovule (BRAMBELL, etc...). Les transformations de la forme, l'alternance — provoquée expérimentalement — des périodes de digestion des réserves, de multiplication, de sécrétion, facilitent l'analyse. La formation du produit de sécrétion, qui est comparable à du vitellus, est d'origine vacuolaire (PARAT, 1928, etc...) : on n'observe pas de sécrétion directement mitochondriale, ou golgienne (en tant que provenant d'un appareil préexistant, GATENBY, etc...). *Après la disparition des enclaves, les quelques petites vacuoles polarisées qui subsistent dans la cellule sont les témoins de la zone de GOLGI, dont on suit la réapparition au cours de la sécrétion.* Le système vacuolaire n'est pas permanent ; toutefois, dans des conditions analogues, ses éléments se reconstituent de même façon [le problème de la naissance du vacuome se ramène pour KEDROWSKY (1932) à celui de l'activation des protéases cellulaires].

Plusieurs cytologistes décrivent dans les cellules en culture un appareil de GOLGI. Les uns confirment ou tendent à admettre ses rapports avec les vacuoles ou granules colorables par le rouge neutre ou d'autres colorants vitaux (CHLOPIN, 1924-1925 ; RUMJANTZEW, 1928 ; ZWEIBAUM et ELKNER, 1926-1930 ; TANAKA, 1932) ; d'autres l'interprètent comme un groupement de canaux occupant une place assez voisine de celle des vacuoles du rouge neutre (CHAMPY, 1926 ; CHAMPY et MORITA, 1928) ; il existerait sous une forme dispersée dans les cellules aplaties ou en dégénérescence et pourrait se transformer en globules de graisses (LUDFORD, 1927 ; SAGUCHI, 1933 ; RICHARDSON, 1934 ; MACDOUGALD et GATENBY, 1935 ; MACDOUGALD, 1935). ZWEIBAUM et ELKNER (1930) attribuent à l'appareil de GOLGI une nature vacuolaire, mitochondrio-vacuolaire, ou mitochondriale : il est constitué partout par les mêmes composants, mais la réduction de l'acide osmique donne, selon les cas,

soit sur le vacuome, soit sur le chondriome. RUMJANTZEW, ZWEIBAUM et ELKNER, et d'autres, se prononcent contre la permanence de cette formation. L'observation et l'expérimentation permettent d'affirmer qu'elle n'existe pas, en tant que réseau, dans les cellules vivantes (STRANGEWAYS et CANTI (1927), LUDFORD, LEVI, etc...) (1). Toutefois d'autres cytologistes en font un constituant cellulaire (Voir, notamment, les travaux de B. GATENBY, et les exposés généraux d'O. DUBOSCQ et P. GRASSÉ, 1933, et de VOÏNOV (1934). MACDOUGALD et GATENBY affirment encore récemment (1935) la distinguer dans les cellules de PURKINJE et dans les éléments germinatifs, à l'état vivant. On ne peut pas, d'autre part, considérer la zone de GOLGI comme un simple artéfact, elle varie physiologiquement ou expérimentalement, occupe en général une position définie, a une structure différente dans les diverses variétés de cellules : c'est une partie spécialisée (LUDFORD), une structure latente visible seulement après fixation (LEVI) ; une région peut être plus fluide que le reste du cytoplasme, qui donne un artéfact de coagulation mais joue, vraisemblablement, un rôle spécialisé dans le métabolisme en raison de ses particularités physiologiques et chimiques (CHAMBERS). Cependant MACDOUGALD (1937), confirmant les travaux sur la division de l'appareil de GOLGI pendant la mitose (*dictyocinèse*), soutient la conception qu'il s'agit d'un organe constant ; l'ultracentrifugation (2) permet de le séparer, car il est léger, des mitochondries plus lourdes ; il existe, indépendamment de

(1) Voir notamment la discussion des communications d'OKKELS et de DUTHIE (1934).

(2) MACDOUGALD et GATENBY (1935) pensent qu'un travail de BEAMS et KING (1935), qui par ultra-centrifugation ont déplacé l'appareil de GOLGI dans les cellules des glandes de l'utérus, sans qu'il se mélange au cytoplasme, met fin à la controverse : appareil de GOLGI artéfact ; ces auteurs se font probablement illusion. Ils reconnaissent, d'autre part, comme SAGUCHI (1933), que la mitose peut s'effectuer sans dictyocinèse. L'appareil de GOLGI serait la partie de la cellule répondant la première aux conditions défavorables *in vitro* (de même pour RICHARDSON, 1934), par gonflement, désagrégation et transformation en une sorte de graisse. Ils en concluent qu'on étudie par la méthode de culture des cellules anormales. Cette affirmation est trop absolue et imprudente, car MACDOUGALD et GATENBY ne précisent pas qu'elle s'applique à leurs propres techniques et non à celles qui ont fait leurs preuves. D'ailleurs B. GATENBY a le mérite de reconnaître (*in* MACDOUGALD, 1935), d'après l'examen de cultures en plasma de son élève J.-C. HILL, que l'appareil de GOLGI peut avoir l'aspect tout à fait normal, même après huit jours d'incubation, et que sa dégénérescence graisseuse est réversible. En fait, la zone de GOLGI se reconstitue, même après plusieurs mois de culture pure. JOYCE C. HILL (1936) conclut que l'analogie remarquable de l'appareil de GOLGI chez les ostéoblastes fonctionnant *in vitro*, et du même, *in vivo*, suffit à réfuter l'assertion de MACDOUGALD et GATENBY. La désintégration de l'appareil et l'augmentation des graisses sont probablement deux expressions différentes du trouble métabolique de la cellule. I. FISCHER et RIES (1936) n'admettent pas la fragmentation et la dégénérescence graisseuse des éléments de GOLGI, mais constatent que le réseau peut disparaître progressivement.

celles-ci, des gouttelettes de graisses et des granules du rouge neutre (de même pour RIES). L'appareil devient plus volumineux et acquiert une structure plus compliquée pendant la différenciation (GILLMAN, 1937).

La correspondance des vacuoles du rouge neutre et du réseau de GOLGI *in vitro* est admise par plusieurs auteurs, — confirmant ainsi les conclusions de BENSLEY, de GUILLIERMOND, de CORTI, de PARAT et PAINLEVÉ et de leurs collaborateurs (COWDRY et SCOTT, 1928; CAWE et SCOTT, 1928, etc.).

— Les chercheurs signalent en majorité dans les publications récentes la grande variabilité de l'appareil de GOLGI, selon les rythmes saisonniers de certains animaux (WEATHERFORD, 1932; FILHOL, 1934) ou — comme le montre G.-CHR. HIRSCH, 1930-1937, suivi par une série de travailleurs — selon l'activité cyclique des cellules glandulaires (du pancréas le plus souvent), vivantes ou fixées, après excitation fonctionnelle. Pour HIRSCH, il existe seulement une substance de GOLGI (et non un appareil), fortement soumise aux modifications de l'ensemble de la cellule, adsorbant certaines matières, réduisant l'acide osmique, en rapport direct avec les vacuoles ou granulations non osmifiabiles auxquelles est lié le futur proenzyme (de même pour W. JACOBS, 1927). Les chondriosomes aussi ne sont pas permanents; ils se reforment (1) après qu'on les a fait disparaître par l'action des rayons X. Dans ce cas, le processus de l'excrétion dans les glandes est seulement retardé; il ne dépend pas d'une partie d'une cellule, mais de la collaboration harmonieuse de toutes les structures qui, à l'exclusion du noyau, semblent pouvoir être toutes reconstruites à partir de l'ensemble. E.-S. DUTHIE (1934) voit les grains de sécrétion naître dans des vacuoles, à la base de la cellule, en connexion étroite avec les mitochondries; ils perdent leur colorabilité par le rouge neutre, deviennent fuchsinophiles, passent dans l'aire de GOLGI où a lieu la maturation, et où ils s'entourent de débris du matériel osmophile. Il n'y a pas nécessairement une parenté morphologique entre les vacuoles et l'appareil. Excitées par l'extrait antéhypophysaire, les cellules thyroïdiennes se gonflent (OKKELS, 1934), puis forment en une demi-heure un appareil de GOLGI qui persiste vingt-quatre heures (il reste relativement massif pendant la phase de repos, d'après GILLMAN 1934). Mais, d'autre part, l'augmentation du nombre des mitochondries est proportionnelle à celle de la colloïde dans les vésicules thyroïdiennes. Les chondriosomes seraient responsables de la synthèse; ils ne se transforment pas eux-mêmes, mais provoqueraient une condensation, probablement sur leur interface avec le cytoplasme; l'appareil serait lié à l'élaboration et à la transmission de la sécrétion. E. RIES (1934-1937), qui étudie à son tour la cellule pancréatique, retrouve les variations fonc-

(1) W. et M. LEWIS, LEVI, CARREL et EBELING, OLIVO, LUDFORD, WALLBACH, etc., montrent la variabilité du chondriome. Il peut régresser, se reconstituer, être plus abondant dans un milieu plus nutritif. Cependant, pour certains, le chondriome ne disparaît jamais complètement (LEWIS, LEVI.)

tionnelles de l'appareil de GOLGI : le stade réticulaire typique n'apparaît que vers la fin de la première phase de la sécrétion. Toutefois, l'auteur croit que les grains résultent d'organites particuliers qu'il nomme *lipochondries*. Ce sont des granules lipoïdiques, constants, osmifiabiles, colorables électivement par les colorants vitaux basiques, situés dans les cellules polarisées, entre le noyau et le champ de GOLGI, se multipliant par clivage, sorte de protomères ne se formant pas *de novo*. Les granules-fils entrent dans la zone de GOLGI, ils y restent en maturation plusieurs heures et deviennent des grains de proenzyme après avoir, en quelque sorte, exsudé leurs lipoïdes et s'être enrichis en albuminoïdes. Ils gagnent alors l'apex de la cellule. Les lipoïdes collaborent à l'édification de l'appareil de Golgi et continuent quelque temps à recouvrir les grains. SIANG HSU (1935) voit aussi que les granules de sécrétion, nés hors de la zone, y sont englobés secondairement.

Il est certain qu'une zone de GOLGI se développe constamment pendant la sécrétion, mais elle ne préexiste pas. Au cours de ce processus (1), on trouve qu'il y a indépendance entre les vacuoles, les chondriosomes et la *substance* lipinique de la zone de GOLGI qui serait très probablement séparable par l'ultracentrifugation. Mais une telle constatation, en soi, ne permet pas de tirer des conclusions générales : il ne s'agit que d'un stade évolutif. Auparavant, la sécrétion est apparue dans les vacuoles polarisées ne contenant pas de corps gras (2); la substance lipinique s'est amassée autour d'elles et a continué à se condenser jusqu'à repousser les grains et la majeure partie des chondriocontes à sa périphérie (3). Si l'on interprète cette substance néoformée, comme l'appareil de GOLGI lui-même, on sera amené à nier ses rapports avec les vacuoles, et la participation de celles-ci à la sécrétion. Cette matière, représentant seulement un des constituants de la zone de GOLGI, provient des lipines des enclaves mûres, comme le voit

(1) Il est rare que des cellules mérocrines qui viennent d'être prélevées à l'organisme soient *complètement et depuis longtemps* dépourvues de sécrétion, sauf peut-être en cas de jeûne très prolongé ; l'analyse n'est que plus difficile. Les glandes des animaux soumis à des périodes d'hibernation et d'estivation constituent un matériel intéressant par son évolution naturelle : c'est ce qu'a compris FILHOL, qui, dans une série d'excellentes notes (1934), arrive à des résultats de même ordre que ceux exposés ici.

(2) Dans quelques cas (chez les végétaux) les vacuoles contiennent des lipines.

(3) Surtout chez les cellules vitellines à l'état de macrophage (Voir deuxième partie).

RIES, par exemple, mais indirectement ; il ne semble pas, d'autre part, que la notion de lipochondries corresponde à une entité particulière, autre que les vacuoles, les grains qui y naissent, les granules lipidiques (microsomes) et les mitochondries (1). La substance lipinique devient, à un stade plus ou moins évolué de la sécrétion, le constituant principal de la zone de GOLGI (2). Il est possible que de nouveaux grains, formés dans des vacuoles à la périphérie de cette substance, y pénètrent ; mais, dans le cas de la cellule vitelline, la maturation des enclaves se poursuit loin de la zone. Il est donc difficile de décider si cette substance osmiophile est de nature spéciale, ou banale et modifiée passivement ; si elle résulte seulement de l'accumulation de lipines par suite de l'hydratation des vacuoles (PARAT, 1928) ou — ce qui paraît douteux — de la lipophanérose.

Cependant sa constance, ses propriétés, sa situation dans la région spécialisée de l'appareil de ségrégation, en général

(1) T. PETERFI (1937) conclut : « Les lipochondries de RIES correspondent vraisemblablement aux dictyosomes de VOÏNOV (1934), tandis que les granules A de G.-CH. HIRSCH probablement aux métachondries de SUZUKI ou aux dictyosomes de PARAT. Toutes ces granulations très fines ressemblent les unes aux autres aussi bien à l'état vivant que dans les préparations fixées et colorées d'une façon spécifique, de sorte qu'on devrait les considérer toutes, dans les cellules glandulaires, comme une étape transitoire entre le cytoplasme non différencié et le métaplasme déjà différencié en granules, c'est-à-dire comme le stade préliminaire des granules de sécrétion déjà formés. » Pour VON MÖLLEN-DORFF, les lipochondries correspondent aux plasmosomes d'ARNOLD. Ceux-ci sont des formations hétérogènes, ils représentent, en partie, des mitochondries d'après CL. REGAUD 1909 (ARNOLD leur assigne, entre autres fonctions, celle d'extracteurs électifs). Pour GUILLIERMOND, ils sont homologables aux vacuoles.

ILSE FISCHER (1938) vient de publier un mémoire important sur la formation du pigment dans les cultures d'épithélium de l'iris. Elle confirme les conceptions de RIES sur les *lipochondries* et s'oppose avec vivacité à une interprétation récente de G. C. HIRSCH, qui considère ces organites comme des corps de GOLGI. Elle montre, en tout cas, que le réseau de GOLGI est une structure de travail (nous sommes tout à fait d'accord sur ce point), se développant lors de la formation des granules de propigment (alors que les cellules sont encore en multiplication active). Il disparaît progressivement au stade d'accumulation ; il se dissout dans le plasma pendant la division cellulaire ; il est résorbé lors de la dégénérescence graisseuse.

(2) Ceci est valable, naturellement, pour une cellule glandulaire sécrétant un produit lipoprotéique ; les phénomènes sont forcément moins apparents chez un élément mésenchymateux dont l'élaboration n'est pas figurée. MACDOUGALD et GATENBY (1936) décrivent, du reste, l'appareil de GOLGI des fibrocytes comme un corps unique, minuscule, formé par une sphère sur laquelle est posée une écorce argentophile ou osmiophile.

juxtanucléaire (où la dégénérescence grasseuse et la précipitation du crinome surviennent en dernier lieu : ZWEIBAUM, 1937) font qu'on ne peut repousser l'hypothèse qu'il s'agit peut-être d'un complexe lipinoprotéique, spécialement élaboré par le protoplasme, et dont le rôle reste à préciser.

Le chondriome joue un rôle important dans la sécrétion; mais il ne se transforme pas lui-même(1), sauf dans quelques cas comme le foie (NOËL), peut-être la glande byssogène des Lamellibranches (TURCHINI et BROUSSY, 1935). Il peut se différencier visiblement dans la zone de GOLGI (PARAT), ou pas. Dans les cellules végétales, GUILLIERMOND (1934) distingue le chondriome proprement dit des plastes élaborateurs qui se transforment seuls. Il pense que ces deux catégories de formations ont une même fonction générale dont celle manifestée par les plastes n'est qu'un cas particulier. On remarquera que les hypothèses suggérées sur la fonction du chondriome sont implicitement contenues dans la partie physiologique de la théorie de CLAUDE REGAUD (1909) : les formations mitochondriales sont les organites intracellulaires chargés de l'extraction et de la fixation électives; ce sont des *électosomes* (RENAUT et REGAUD). Que les chondriosomes, ou les plastes, soient considérés comme *un support et un lieu d'oxydations et de réductions* (MAYER et SCHÆFFER, 1913) (2), comme *un ensemble de catalyseurs organisés* (NAGEOTTE, 1922), etc., tous les auteurs leur attribuent une fonction synthétique, en général en rapport avec leur très grande surface (COWDRY, 1926 et ses collaborateurs; ROBERTSON, 1926; WARBURG, 1927; PARAT, 1928; KÆHRING, 1930; LE BRETON, 1931; KEDROWSKI, 1932; VOLKONSKY, 1933; OKKELS, 1934; GUILLIERMOND, exposé général de 1934). Les protéases, spécifiquement précipitées par le vert JANUS et dont l'activité est accrue par la surface catalytique des lécithines (MARTSON, 1926), agissent à la surface du chondriome comme agents protéolytiques et protéosynthétiques (ROBERTSON, 1926). Les oxydo-réductions aboutissant aux synthèses sur le chondriome seraient achevées dans le vacuome, siège des oxydations respiratoires, dont le rH_2 est plus bas que celui du cytoplasme; les chondriocontes actifs en contact avec les vacuoles constitueraient respectivement la phase lipidique et la phase aqueuse, nécessaires à la protéosynthèse selon ROBERTSON (PARAT, 1928). Des aliments azotés sont condensés sur le leucoplaste d'un protiste (il pourrait en être ainsi sur les mitochondries du foie); mais la synthèse, du stade polypeptide au stade protéine, serait achevée dans les vacuoles (VOLKONSKY, 1930). Les protéases seraient synthétisées sur le chondriome (qui contribuerait aussi à la formation du protoplasme) avant d'être activées dans le vacuome, où elles deviennent pro-

(2) Il en est ainsi lors de l'édification des neurofibrilles *Szepseuol*, (1934).

(2) Voir aussi FAURÉ-FRÉMIET, ANDRÉ MAYER et G. SCHÆFFER, *C. R. Soc. Biol.*, 1909, t. 66, p. 921-923.

téosynthétiques (KEDROWSKI, 1932). GUILLIERMOND écrit (1934) : « ... Ces auteurs (KEDROWSKI et VOLKONSKY) font remarquer que la théorie de ROBERTSON-MARTSON peut aussi bien s'appliquer au système vacuolaire qu'au chondriome : il suffit, pour cela, de remplacer l'interface cytoplasme-chondriome par l'interface cytoplasme-vacuome, et l'on sait, d'autre part, que le rouge neutre, colorant du vacuome, appartient à la série azinique aussi bien que le vert Janus, colorant du chondriome. Mais cette manière de voir nous paraît exagérée, car on ne peut refuser aux plastes des végétaux chlorophylliens un rôle prépondérant dans les synthèses cellulaires et, d'autre part, on est bien obligé de reconnaître que les diastases ne sont pas toutes localisées dans les vacuoles, puisque l'hydrolyse de l'amidon s'opère dans les plastes eux-mêmes. » Rien n'empêche de considérer que c'est l'activation des protéases, selon KEDROWSKY, qui s'effectue dans les vacuoles et aussi dans les plastes ; ce qui n'exclut nullement la présence de ces enzymes, peut-être non activées, dans le cytoplasme. Dans le cas, de la cellule vitelline, le contact chondriome-vacuome n'est pas toujours étroit ; le serait-il qu'on pourrait se demander s'il existe physiquement, puisque certaines vacuoles semblent parfois recouvertes d'une pellicule lipinique décelable ou, en tout cas, ont une membrane physique propre. *Il semble donc que l'interface chondriosome-cytoplasme puisse être considérée comme le siège initial de l'élaboration qui se poursuit — ou débute peut-être aussi dans d'autres cas — à l'interface cytoplasme-vacuole, aboutissant avec l'aide de toute la cellule à la construction d'un grain de sécrétion* (1). Cette conception est du reste en accord avec les vues fécondes de H. DEVAUX (1928, 1930), synthétisant divers travaux et bien mise en lumière par GUILLIERMOND. Toutes les parties solides de la cellule sont moléculairement organisées, en particulier les membranes plasmiques ; celles-ci représentent un système de catalyseurs hétérogènes « qui se forment et s'entretiennent automatiquement, en même temps qu'ils produisent toutes les transformations physico-chimiques dont la cellule est le théâtre... ». On peut concevoir que l'activation par mise en surface est effectuée par toutes les structures cytoplasmiques et dépend effectivement de l'ensemble de la cellule, selon la souple et pénétrante synthèse de HIRSCH (1937). Ramenée à un schéma, cette conception est qu'un grain de sécrétion résulte successivement de l'activité d'une mitochondrie, du cytoplasme, du noyau, d'un granulum, de la substance de GOLGI ; il y a ainsi une série d'étapes. Imposer à la matière vivante un mode unique de fonctionnement synthétique, strictement en rapport avec un organite défini, est, en effet, entreprise trop chargée d'optimisme. La zone de

(1) E. GRYNFELTT (1935) suppose qu'on pourrait même « invoquer des actions de surface, au niveau de l'interface des formations golgiennes et de la phase aqueuse du cytoplasme, accumulée tout autour sous forme de vacuoles colorables au rouge neutre ». Rien ne s'y opposerait s'il existait une interface réelle dictyosome-vacuole, ce qui semble ne pas être, et une formation de dictyosomes précédant celle des grains de sécrétion.

GOLGI ne doit pas être, sans cause, accolée le plus souvent au noyau ; dans la cellule vitelline, celui-ci ne participe toutefois pas, d'une façon visible, à la sécrétion.

*C. — Sur la sécrétion et les fonctions de l'entoblaste vitellin.
Interprétation.*

L'expérimentation a permis non seulement de confirmer que les cellules vitellines sont douées d'une fonction sécrétoire, ce qui est connu, mais d'établir (1935) — et là réside l'intérêt — qu'elles l'ont preuve de la propriété d'élaborer et d'excréter un produit figuré, alors que n'étant plus dans le cas d'absorber le vitellus de la vésicule ombilicale.

Nous allons rappeler l'essentiel des conceptions de quelques auteurs principaux, en ce qui concerne *les fonctions de sécrétion, d'absorption et de digestion de l'entoblaste vitellin* chez la Poule et, accessoirement, chez d'autres animaux (1) ; nous essaierons ensuite de nous faire une opinion sur la nature du produit sécrété que nous avons mis en évidence ; enfin, nous chercherons dans quelle mesure les résultats exposés s'accordent avec les théories de nos prédécesseurs.

a. *Aperçu historique.* — On trouvera un résumé d'une partie des travaux anciens dans le mémoire de H. DUBUISSON (1906). Qu'il suffise de rappeler l'opinion de KOLLIKER (1882) : l'entoderme absorberait le vitellus à l'état liquide, il y aurait ensuite condensation en sphérules ; et l'observation de MATHIAS DUVAL (1884) : les sphères qui remplissent les cellules de l'entoderme du sac vitellin sont peu à peu résorbées, si bien qu'il ne reste finalement que de grandes cellules claires.

Les recherches de HANS VIRCHOW (1875-1892) sont fondamentales. Ce savant résume son œuvre de la sorte : « En examinant le sac vitellin du Poulet, j'ai vu que le canal vitellin, malgré qu'il reste ouvert, ne sert pas pour conduire le vitellus dans l'intestin et que l'épithélium intestinal ne sert pas pour la résorption du vitellus, donc que le vitellus est

(1) La digestion du vitellus est effectuée de plusieurs manières dans les divers genres de Vertébrés. Peuvent y prendre part, selon les cas (d'après K. PETER, 1922) : les blastomères, les mérocytes, les cellules vitellines du vitellus, l'épithélium du sac vitellin, le produit de sécrétion pancréatique.

absorbé exclusivement par l'épithélium du sac vitellin où il est digéré et d'où il est transmis au sang » (1892). Il remarque que les enclaves des cellules vitellines, chez la Poule, sont orientées du côté du deutoplasme (1875). Il y a deux sortes d'enclaves : les premières sont constituées pendant la formation de l'épithélium, les cellules reçoivent une quantité abondante de vitellus inaltéré. Dans la suite, l'épithélium est en rapport avec le deutoplasme en transformation. Il y a peut-être englobement de ce produit dans les premiers stades, mais, lorsque l'épithélium stratifié se réduit à une couche, cela paraît impossible, les cellules n'étant pas amiboïdes. Ces enclaves sont des grains de vitellus et de la graisse. « Je ne peux pas dire si cette graisse a été séparée des grains de vitellus déjà à l'intérieur des cellules ou si elle est entrée séparément dans les cellules » (1892). Entre épithélium et deutoplasme, dans la *fente périlécithale*, prolongement périphérique de la cavité sous-germinale, se forme une coulée d'un liquide « qui a probablement une grande importance pour la digestion du vitellus ». Ce liquide devient progressivement plus abondant, puis, dans la deuxième moitié de l'incubation, disparaît. Les organes vitellins de tous les Vertébrés paraissent homologues.

SCHAPER (1902) injecte sous le disque germinatif, dans le sac vitellin âgé de deux et six jours, une suspension de carmin dans l'eau physiologique. Puis l'incubation est poursuivie. Trois et quatre jours plus tard, il retrouve, uniquement dans les cellules vitellines, du côté du deutoplasme, de la cavité, des grains de carmin, isolés ou en amas. Ceux-ci existent dans l'épithélium stratifié et aussi dans celui à une couche. SCHAPER accepte l'hypothèse de la phagocytose du vitellus, mais considère que ce phénomène n'exclut pas qu'il y ait absorption de cette substance liquéfiée.

DUBUISSON (1904-1905) décrit la résorption du vitellus chez les Oiseaux, les Reptiles et les Poissons, d'après des coupes de vésicule ombilicale au cours du développement. Il conclut : « Le processus qui préside à la digestion du vitellus est phagocytaire. » Chez l'embryon du Poulet de douze heures, la paroi latérale de la vésicule ombilicale est formée par deux feuilletts, l'ectoderme en dehors, l'entoderme en dedans ; ils

sont limités tous deux au bourrelet terminal. Des cellules entodermiques font saillie dans le deutoplasme sous-jacent, ou même se détachent et y pénètrent. C'est dans la région moyenne de la paroi que les éléments de l'entoderme se chargent d'enclaves tout à fait semblables aux petites sphères vitellines ; les caryocinèses sont normales. Il ne semble pas y avoir de cellules vitellines en émigration à ce niveau, comme VIRCHOW l'a signalé. L'épithélium devient stratifié ; la quantité des enclaves blanches et jaunes augmente et, corrélativement, la taille des cellules. La digestion des enclaves est manifeste ; elle est plus importante dans l'épithélium stratifié, dès qu'on se rapproche de l'embryon. Les cellules les plus voisines de la masse vitelline sont, parfois, dépourvues d'enclaves et ont un cytoplasme clair. Une alternance entre les cellules riches et pauvres en vitellus indiquerait qu'un élément qui en est rempli perdrait sa faculté d'englobement, mais cette propriété se retrouve après la disparition du vitellus dans la cellule.

Chez l'embryon de trois jours et demi, l'aire vitelline est formée par l'ectoderme et l'entoderme stratifié. Dans la zone où apparaît le mésoderme, l'épithélium vitellin reste encore stratifié sous les premiers vaisseaux ; la digestion des enclaves est avancée. Plus près de l'embryon encore, l'épithélium se réduit à une couche et revêt les replis que l'aire vasculaire commence à former dans le deutoplasme. Il semble que la cellule entodermique, qui paraît se comporter comme un phagocyte, opère le dédoublement du vitellus ; les matières albuminoïdes sont digérées les premières ; les graisses se rassemblent en grosses gouttelettes comme dans les cellules adipeuses. Il existe dans toutes les coupes, sous l'épithélium, une zone granulaire homogène, de même que sous l'embryon ; elle diminue vers la périphérie du blastoderme. Mais DUBUISSON tient à l'hypothèse de la phagocytose et ajoute : « ... Il est difficile d'admettre que des cellules qui renferment des plaquettes vitellines bien formées et qui en absorbent à nouveau soient séparées du vitellus par une couche liquide à laquelle elles ne touchent pas. Il est donc vraisemblable qu'il ne s'agit que d'un artéfact. »

Au huitième jour de l'incubation, en deçà du bourrelet mésodermique, l'épithélium est encore stratifié, mais se dispose bientôt en une couche où les enclaves diminuent. Les replis vasculaires, dès le troisième jour, peuvent se souder et limiter de la sorte des lacunes remplies de vitellus ultérieurement résorbé. Au neuvième jour, l'auteur remarque que des cellules se détachent de l'entoderme bordant ces lacunes, s'arrondissent et peuvent dégénérer.

Au quinzième jour, le deutoplasme de la vésicule ombilicale est devenu complètement homogène ; cette liquéfaction conduit à penser que les cellules sont capables de libérer des diastases. « Il semble que les cellules aient conservé leur pouvoir phagocytaire, mais celui-ci est bien amoindri. » Dans la suite, la vésicule ombilicale se réduit : lorsqu'elle est rentrée dans l'abdomen, après l'éclosion, les cellules vitellines se détachent isolément ou en groupes, elles tombent dans le reste du magma vitellin (1).

Il semble, pendant la période succédant à celle des travaux qui viennent d'être analysés, que l'attention des chercheurs se porte principalement sur le sac vitellin d'animaux autres que la Poule. Ce n'est qu'assez récemment que l'histophysiologie de l'entoblaste vitellin, chez cet oiseau, est reprise à l'aide de moyens d'investigation perfectionnés. Nous allons grouper quelques résultats acquis par l'étude d'autres objets que celui-là ; ces notions, disparates à première vue, nous seront utiles pour notre interprétation. Nous continuerons, en dernier lieu, l'histoire de l'entoblaste vitellin, chez la Poule.

La vésicule ombilicale de l'Homme et des Mammifères est considérée comme ne jouant pas de rôle nutritif pour l'embryon, comme en ayant un important, ou comme étant le siège d'une sécrétion interne.

VON SPEE (1896) établit une analogie entre la vésicule ombilicale humaine et le foie ; le sac vitellin inaugure les processus métaboliques

(1) Le reste du vitellus, qui est finalement résorbé, contient cependant encore des globules huileux et des calcosphérites. La paroi du sac est fortement épaissie. « Il y existe, en outre, d'énormes faisceaux conjonctifs de nouvelle formation » (CHARBONNEL-SALLE et PHISALIX, 1886). Il serait intéressant de chercher l'origine de ces faisceaux ; les cellules vitellines ne sont-elles pas responsables de leur formation, puisqu'elles édifient de volumineuses structures fibrillaires, *in vitro* ?

effectués ensuite par le foie. SAXER (1896) fait aussi un rapprochement entre les deux organes.

VOELTZKOW (1900) chez les Crocodiliens, L. COHN (1906) chez les Reptiles, constatent une dissolution du vitellus, préalable à l'absorption par l'entoderme (1).

Pour H.-E. JORDAN (1907 et 1910, vésicule humaine) : « La structure générale tant des tubules que des cellules qui les bordent indique une activité sécrétoire des cellules. De plus, un coagulum amorphe est présent dans les tubules de même que dans la cavité du sac. Ce coagulum dans le sac est très probablement le reste d'un contenu liquide, élaboré par les tubules entodermiques. Ce peut représenter une sécrétion nécessaire dans la préparation du vitellus nutritif avant l'absorption, chez les sacs des individus ancestraux, dont les œufs contenaient un deutoplasme abondant » (1910). La sécrétion dans la vésicule humaine ne serait que la persistance phylogénétique d'une fonction nécessaire chez les Sauropsidés et les Mammifères ovipares.

Le liquide vitellin sécrété dans la vésicule humaine est, du reste, parfois aussi jaune que le vitellus jaune des Oiseaux (VON BAER, 1837) ; un nombre plus ou moins considérable de cellules vitellines peuvent y flotter (ETERNOD, 1906) ; on y trouve des sphérules de vitellus (STUMP, 1929).

MELISSINOS (1907) observe, dans les cellules du feuillet viscéral de la vésicule ombilicale de la Souris, des grains albumineux et des gouttes qui, en leur milieu, sont réfringentes.

J. NORBERG (1912) décrit des stades de sécrétion dans l'entoblaste vitellin chez l'Homme. Des grains éosinophiles et des mottes basophiles inégales se dissolvent dans les cellules qui deviennent criblées de vacuoles ; il y a excrétion de petites vésicules. Des érythrocytes jeunes pourraient être captés.

A. BRANCA (1908-1913) rend compte avec netteté de ses coupes de vésicule ombilicale humaine et fait la critique des travaux de ses devanciers. Il entre en polémique avec JORDAN ; il ne peut confirmer les résultats de NORBERG. Il assimile le fonctionnement de cet organe à celui de l'intestin. Il y décrit des processus sécrétoires : formation de boules de graisses [de même que HENNEGUY (1892), VON SPEE (1896), etc...] et des grains albuminoïdes arrondis, inégaux, acidophiles, n'existant pas dans toutes les cellules. « Cette sécrétion est en rapport avec l'absorption du vitellus, avec sa transformation et avec l'excrétion du deutoplasme ainsi modifié. »

BRANCA (1921-1923) étend ses recherches à la vésicule des Chéiroptères et des Rongeurs. Il retrouve, d'abord chez les Chéiroptères, les grains de sécrétion se développant à côté des boules de graisses. « Ils finissent

(1) PORTMANN et BIDDER (1928), étudiant dans l'œuf de *Loligo* l'absorption du vitellus, constatent que ce produit subit partiellement une transformation préalable.

par remplir complètement le cytoplasme et, à ce moment, le chondriome ne peut plus être décelé. J'ajouterai que des grains identiques s'observent chez les carnassiers (Chien, Chat) et chez les Rongeurs (Lapin, Rat, Souris, Cobaye) que j'ai eu l'occasion d'étudier. Les grains albuminoïdes constituent donc un matériel de sécrétion d'une constance remarquable » (1923). Chez les Chéiroptères, il existe en outre des grains de sécrétion dans le mésothélium du sac vitellin. Le liquide accumulé [qui, pour VAN DER STRICHT (1895), est déversé d'un côté dans la cavité de la vésicule et, de l'autre, dans les lacunes du mésoderme, où il représenterait le premier plasma sanguin] est originellement très peu abondant : « on peut le regarder comme un vitellus fluide », il augmente de quantité pendant les premiers stades du développement, puis est résorbé. Au cours de ce processus, l'entoderme est chargé de graisses, de glycogène [CLAUDE BERNARD (1859), A. ROBIN, etc...] et de grains albuminoïdes : « ... toutes substances qu'il édifie aux dépens des produits qu'il résorbe et qu'il restitue ensuite à l'embryon ». Chez les Rongeurs (BRANCA, 1923), les grains de sécrétion sont insolubles dans l'eau et les carbures d'hydrogène ; ils fixent l'hématoxyline (ou seulement à leur périphérie, le centre étant teinté par l'éosine) ; après fixation osmiée, ils retiennent la safranine, le violet de gentiane, la fuchsine d'ALTMANN. A la fin de la gravidité, les grains disparaissent presque entièrement. Cette description, faite chez le Lapin, est voisine chez la Souris et, en général, chez le Cobaye. S'opposant aux conceptions de SOBOTTA et ASAÏ (1913), qui décrivent de leur côté, dans l'entoderme de la Souris, la graisse, le glycogène et les grains (1), BRANCA (1923) est très catégorique : « Ce ne sont pas des grains de sécrétion comparables aux grains de sécrétion du pancréas ; ce sont, à mon avis, des produits albuminoïdes absorbés, puis élaborés par l'entoderme vitellin. » En définitive, ces substances, prélevées par la partie vilieuse de la vésicule ombilicale, sont cédées au réseau vasculaire qui les transporte à un foyer d'utilisation.

D'après H. HRABOWKI (1926), l'absorption du deutoplasme est effectuée par les lymphocytes qui le transmettent ensuite aux vaisseaux sanguins et, en partie, par la paroi de l'organe vitellin.

POL GÉRARD confirme (2) et étend les expériences de GOLDMANN (1912), qui a montré que le trypano-bleu injecté à la Souris gravidé est

(1) SOBOTTA (1913) trouve des particules chargées d'hémoglobine, provenant des globules rouges sanguin-maternels en dégénérescence dans les cellules épithéliales de la vésicule ombilicale chez la Souris.

ASAÏ (1913-1914), chez le même animal, attribue de plus aux cellules entodermiques géantes de la paroi viscérale du sac vitellin la propriété de phagocyter des érythrocytes et des cellules déciduales entières. La partie vilieuse du sac vitellin serait sécrétoire, la partie lisse absorbante.

Pour BECHER (1921), les plis du sac vitellin absorbent les dégénérats du tissu placentaire chez *Dasyprocta*, etc.

(2) Voir aussi M. ARON : *C. R. Soc. Biol.*, 1928, t. 100, p. 842-844, etc...

accumulé par l'entoblaste vitellin, l'embryon lui-même ne retenant pas ce colorant. GÉRARD (1925) voit que le trypano-bleu injecté à l'embryon s'y fixe ; jamais dans les cellules entoblastiques de la vésicule ombilicale ; au contraire, énergiquement s'il est injecté dans le sinus entoblastique. L'entoblaste vitellin de la Souris accumule donc le trypano-bleu *in vivo*. Mais alors que, pour WISLOCKI, le tissu extrait le colorant du sang fœtal, pour GÉRARD, le trypano-bleu parvient à l'entoblaste en passant librement à travers l'épithélium utérin ; l'endothélium des capillaires du placenta fœtal ne le laisse pas passer. Chez les Chéiroptères (GÉRARD, 1928, *Vesperugo noctula*), après injection de trypano-bleu à une femelle gestante, l'épithélium utérin reste imperméable ; « l'entoblaste vitellin semble complètement indifférent, et la vésicule ombilicale qu'il limite se présente comme un organe résiduaire bientôt flétri qui ne conserve d'importance que par son enveloppe mésoblastique (non compris le mésothélium), où se trouve localisée l'ébauche du système érythropoïétique primordial : rappel des dispositions que l'on trouve chez les Sauropsidés » (1930).

A.-E. BRUNSCHWIG (1927) injecte des sels de fer à la femelle gravide du Rat ; il les caractérise ensuite dans le cytoplasme des cellules entoblastiques de la vésicule ombilicale. Le passage de la mère à l'embryon de neuf jours se fait non par le cône ectoplacentaire, mais par le sac vitellin, ce qui semble indiquer une placentation physiologique de cet organe, précédant le développement du placenta proprement dit. Le fer doit traverser l'ectoblaste, pénétrer dans la cavité du sac vitellin, d'où il est absorbé et amassé par les cellules entoblastiques.

LITWER (1929, vésicule de la Souris) conclut que des granules de sécrétion apparaissent dans la région du réseau de GOLGI. La situation de celui-ci est inversée lorsque la cellule change de fonction ; en effet, l'activité sécrétoire précède toujours la résorption.

BERKELBACH VAN DER SPENKEL (1932) constate, à son tour, dans le sac vitellin de la Chauve-Souris, des grains de sécrétion dans les cellules ; celles-ci ressemblent à des éléments lutéiniques. La vésicule ombilicale est un organe à sécrétion interne. Les données de SCHILLING et BLEECKER (1928), selon lesquelles l'accroissement rapide des poussins n'est pas corrélatif d'une résorption accélérée du sac vitellin, sont interprétées par BERKELBACH VAN DER SPENKEL, comme indiquant que la valeur nutritive du vitellus n'est pas seule en jeu, mais que, après l'éclosion, le sac vitellin pourrait avoir une action chimique sur le métabolisme.

V. TUMA (1932) retrouve les enclaves des cellules vitellines humaines ; elles sont nombreuses, basophiles, grossières et disséminées de façon irrégulière.

TEN CATE-HÆDEMAKER (1933) observe que les cellules de l'entoblaste vitellin, chez un Reptile, contiennent beaucoup d'enclaves. Bien qu'il n'y ait plus de vitellus dans la cavité de la vésicule ombilicale, il lui semble pourtant sûr que ces enclaves représentent le résidu du vitellus résorbé.

Il est possible, comme chez *Lacerta* (HRABOWSKI, 1926), que *Seps chalcides* possède, dans les premiers stades, une vésicule ombilicale — sac vitellin.

Reprenons, maintenant, l'exposé de quelques travaux sur le sac vitellin, chez la Poule.

E. REMOTTI (1927-1933) fait des recherches physiologiques importantes sur cet organe. Il établit une corrélation entre les différents aspects que prennent les enclaves et le développement des activités diastatiques. Il conclut essentiellement « à une évolution progressive du processus de ségrégation de la réserve de vitellus, depuis une phagocytose primitive, jusqu'à l'absorption succédant à une digestion extracellulaire préalable » (1927).

REMOTTI admet, pour les stades initiaux, l'hypothèse classique de la phagocytose directe des grains deutoplasmiques de la cavité ombilicale, par les cellules entoblastiques. Il note, comme argument éventuel, les expériences de SCHAPER sur la phagocytose des particules de carmin injectées dans la vésicule au cours de l'incubation. Cependant il prend soin d'ajouter : « Mais, tandis que, jusqu'à présent, on est encore bien loin d'avoir démontré la possibilité, et aussi la nécessité, que la phagocytose représente l'unique processus mis en jeu par les cellules aux fins d'utiliser les réserves vitellines — ceci pourrait être aussi interprété comme une réaction à caractère peut-être défensif vis-à-vis d'un matériel anormal — l'analogie apparente entre le vitellus exo- et endocellulaire n'est pas non plus beaucoup plus persuasive à ce sujet, cela étant la seule contribution que la recherche purement histologique ait offerte jusqu'à présent à la résolution du problème. » Toutefois, comme au début du développement les ferments sont rares dans le vitellus, l'épithélium stratifié du sac vitellin n'ayant pas atteint la plénitude de ses fonctions, l'absorption n'est admissible que par phagocytose, activité primitive des cellules ; le vitellus des cellules épithéliales est, à ce stade, comparable à celui du sac.

Alors que l'épithélium atteint son organisation complète, les enclaves sont modifiées, réduites jusqu'à disparaître, remplacées par de petites masses granulaires indécises, représen-

tant peut-être un résidu d'une digestion primitive — car l'activité diastasique, apparaissant près de l'embryon, se propage très tôt dans la paroi entoblastique, où elle est uniformément diffusée vers le neuvième ou dixième jour — ou provenant de la reconstitution des substances absorbées. Le fait que la graisse doit être liée à ce résidu granulaire protéique est « une preuve de l'absorption directe du matériel intact et qui sera séparé seulement dans un deuxième temps (1) ». D'autre part, le vitellus de la cavité de la vésicule devient plus finement granulaire, plus homogène, comme l'avait vu VIRCHOW ; ce fait est en rapport avec l'augmentation du liquide périlécithique, qui « doit être considéré comme un produit de sécrétion des cellules épithéliales ». Le ferment, élaboré ou activé par les cellules, passe dans la cavité du sac, ce qui provoque la désagrégation enzymatique extracellulaire du vitellus. La graisse est séparée, absorbée « peut-être, comme chez l'adulte, reconstituée sous forme de grosses gouttes dans les cellules, où elle réapparaît indépendamment des constituants protéiques ». Ceux-ci sont probablement prélevés à l'état d'acides aminés solubles.

REMOTTI (1927 et 1930) mesure l'accroissement des propriétés protéolytiques puis lipolytiques dans le vitellus au cours de l'incubation (2).

(1) RUFFINI (1925) (d'après REMOTTI) a vu des échanges de sphérules de vitellus entre l'ecto- et le mésoblaste.

REMOTTI (1927) a remarqué, vers le deuxième jour de l'incubation, la migration vers le mésenchyme de l'aire vasculaire de grosses cellules vitellines : « ...c'est une nutrition par transport sans participation du réseau vasculaire ».

FLORIAN (1930), chez l'embryon humain, note : « Les cellules du mésoderme sont en rapport avec celles de l'entoderme du sac vitellin, au moyen de cytodermes et quelques-unes des cellules de l'entoderme du sac vitellin paraissent être entrées dans le mésoderme. »

(2) On trouvera un résumé de la question des diastases décelées dans le jaune d'œuf, au cours du développement, dans le traité de NEEDHAM (1931, vol. 3). (Voir aussi d'autres données dans : FAURÉ-FRÉMIET, *La cinétique du développement*, 1925.) L'auteur donne la liste suivante (table 195) : lipase, protéase, amylase, catalase, histozyme, salicylase, lécithase, tyrosinase, carotinase, ovomucoidase, activité glycolytique, réduction des nitrates. Dans le sac vitellin, on a caractérisé l'ovomucoidase et la xanthinoxidase. Rappelons seulement quelques faits. TALLARICO (1908) montre le développement de la lipase, de la protéase et de la catalase, corrélativement à celui de l'embryon. Ce résultat est confirmé, de même que pour d'autres diastases. Si l'embryon meurt, la catalase diminue rapidement, la lipase et la protéase lentement. La lipase res-

L'activité de la protéase et de la lipase, pendant une première période, est faible ; elle augmente rapidement ensuite. Le pouvoir protéolytique maximum est atteint au huitième-dixième jour (M. CALZONI, 1930, obtient des résultats de même ordre, chez la Poule et le Canard) ; or, d'après les NEEDHAM (1926), le catabolisme maximum des protéines, dans l'œuf, est situé au huitième jour et demi. Le pouvoir lipolytique est le plus fort vers la fin de la deuxième semaine, le catabolisme des graisses, vers le dixième jour. REMOTTI en déduit que les réserves de graisses et de protéines, d'abord phagocytées pour une part comme globules de vitellus entiers, sont, d'autre part, l'objet d'une utilisation sélective intense après avoir été transformées en produits solubles dans la cavité du sac vitellin. L'épithélium entoblastique aurait alors un fonctionnement parfaitement comparable à celui de l'intestin adulte (1).

REMOTTI (1931-1933), poursuivant ses recherches, montre que l'involution du sac vitellin est retardée et son activité prolongée, si l'on y injecte une quantité supplémentaire de vitellus (et non de l'huile de paraffine, par exemple). Si ce corps injecté provient d'œufs frais ou au début de l'incubation, les résultats sont peu concluants ; ils sont nets si le deutoplasme est recueilli au cours de la deuxième décade du développement, comme s'il contenait un principe (auto-hormone) provenant de l'activité de l'épithélium vésiculaire du donneur et influençant celui de l'hôte.

Tuant l'embryon dans l'œuf, par refroidissement ou immersion dans une solution à la température de 40°, oxygénée, REMOTTI (1933) étudie le sac vitellin en survie. On sait, en effet, que les blastodermes peuvent être dépourvus d'embryon (RABAUD, 1899, etc...) et que le sac vitellin continue à

semblerait plus à celle du sérum et du pancréas qu'à celle du foie (RONA et VAN ERVEYK, 1924). L'oxydase xanthique, qui existe dans le sac vitellin, n'est pas décelée dans le foie, jusqu'à l'éclosion ; cet organe en devient ensuite très riche ; ce fait paraît en rapport avec l'absorption du vitellus (E.-J. MORGAN, 1930). Pour l'amylase, voir page 278.

(1) Le poids du vitellus diminue, quoique celui du sac vitellin augmente notablement entre le dixième et le seizième jour de l'incubation (T.-C. BYERLY, 1932).

s'accroître, l'embryon étant mort (T. C. BYERLY, 1926 ; puis, confirmant REMOTTI : G. ALIBERTI, 1933 ; Z. GRODZINSKI, 1933, 1934). REMOTTI fait l'observation intéressante que non seulement l'entoblaste vitellin poursuit son extension, mais qu'il se multiplie et se charge à nouveau d'enclaves vitellines, bien qu'il ait atteint le stade d'épithélium recouvrant les plis de la vésicule ombilicale ; inversement, les vaisseaux sont en involution. Il y aurait réapparition de l'activité phagocytaire initiale. Les divers territoires de l'épithélium sont, d'ailleurs, inégalement sensibles ; il en est qui dégénèrent (certaines régions du blastoderme ont un pouvoir d'oxydation supérieur à celui des autres : J.-W. BUCHANAN, 1926).

D'après G. ZANONI (1933), la distinction entre les enclaves épithéliales qui résulteraient de la phagocytose et celles qui proviendraient de la reconstitution endocellulaire pourrait être décelée (normalement ou lors de la réapparition de la phagocytose dans les expériences de REMOTTI) par des variations de fluorescence à la lumière ultra-violette. Les enclaves de la première catégorie ont une fluorescence jaune rosé, analogue à celle du vitellus de la cavité.

ELSE KNACKE (1935) est amenée à étudier les voies de résorption du vitellus chez l'embryon âgé et le poussin. Elle confirme les observations de A. DE HALLER (1758), sur le passage du jaune d'œuf dans l'intestin du poussin, puis expérimente. A partir du dix-neuvième au vingtième jour de l'incubation, et non avant, le contenu intestinal est jaune doré ou verdâtre, ressemblant à celui de la vésicule ombilicale. Après injection de trypano-bleu dans la cavité du sac vitellin rentré dans l'abdomen, chez le poussin à jeun, des parties du contenu intestinal et les selles sont bleues. Le vitellus, à la fin de l'incubation, passe donc dans l'intestin où il est résorbé. Le passage dans le canal vitellin et dans l'intestin grêle est probablement rapide, ce qui expliquerait les résultats opposés de VIRCHOW ; le séjour dans les deux appendices intestinaux serait plus long. Le deutoplasme du sac vitellin ne serait pas simplement refoulé lorsque l'organe devient intra-abdominal ; il serait aspiré grâce aux contractions des appendices.

En somme, les auteurs ont été conduits à envisager, comme

processus liés à l'utilisation du vitellus de la vésicule ombilicale, en général, les phénomènes suivants : phagocytose des grains entiers constituant des enclaves dans les cellules dites vitellines, digestion intracellulaire de celles-là, émission de ferments dans la cavité du sac vitellin, absorption de vitellus digéré, reconstitution d'enclaves par les produits absorbés, passage du deutoplasme dans l'intestin chez l'embryon âgé et le poussin. Les uns n'invoquent qu'un de ces mécanismes ; les autres plusieurs, selon une succession déterminée.

b. *Discussion et interprétation.* — Examinons d'abord la valeur de quelques conceptions ; nous chercherons ensuite dans quelle mesure celles-ci peuvent être utilisées pour l'édification d'une théorie.

La phagocytose des grains de vitellus entiers, leur coalescence et leur persistance assez longue dans les cellules est une idée satisfaisante en apparence ; il faut reconnaître qu'il s'agit là d'une hypothèse d'allure raisonnable, mais dont il serait souhaitable de donner une démonstration sûre. *La preuve ne peut être que l'observation directe de l'englobement des grains par les cellules entoblastiques, in ovo, avec développement consécutif des enclaves ; elle n'a pas été fournie jusqu'ici.* L'accumulation du carmin par l'épithélium vitellin, chez le Poulet (SCHAPER), du trypano-bleu chez les Rongeurs (GOLDMANN, GÉRARD, WISLOCKI, etc...) ou desels de fer (BRUNSCHWIG), etc. ; l'ultraphagocytose, *in vitro*, par les cellules vitellines du Poulet, de l'encre de Chine (GRODZINSKI, ANDRÉ THOMAS), l'accumulation du trypano-bleu et du carmin (ANDRÉ THOMAS), sont des arguments sérieux pour la théorie de la phagocytose (1), mais indirects. Ils n'apportent pas une certitude. D'autres faits expérimentaux que nous avons établis conduisent en effet à n'accueillir qu'avec circonspection l'hypo-

(1) Surtout si l'on admet avec plusieurs auteurs, SCHULEMANN (1917), DE HAAN (1923, etc.), qui introduit la notion d'ultraphagocytose, etc., que les phénomènes de colloïdopexie ou chromopexie et de phagocytose ne sont pas essentiellement différents. M. VOLKONSKY (1933) conclut que la chromopexie des colorants acides sort du cadre des phénomènes de perméabilité cellulaire et se rattache à la phagocytose ; elle implique une déformation du protoplasme superficiel. Les facteurs électriques et capillaires de la phagocytose peuvent être transportés aux dimensions ultra-microscopiques.

thèse de la capture des grains de vitellus entiers, *au moins comme seul processus initial de la formation des enclaves, in ovo*. La cellule vitelline, dans les colonies épithéliales ou du type fibrocyte, ne phagocyte pas les érythrocytes ; si les grains entiers sont englobés, ils sont détruits peu après. Le vitellus déposé sur une colonie épithéliale ne provoque pas l'enrichissement des cellules en enclaves vitellines, mais en boules lipidiques ; il en est de même si les éléments ont acquis le type fibrocyte et sont dépourvus de leurs enclaves originelles. On a constaté, en outre, que les propriétés d'accumulation des colorants sont en général manifestées au plus haut point par les cellules vitellines, lorsqu'elles contiennent des enclaves de vitellus en digestion. Celles qui en sont dépourvues paraissent avoir, à cet égard, des propriétés peu différentes de celles de la majorité des éléments épithéliaux d'autre origine.

L'élaboration de ferments par l'entoblaste vitellin est un fait établi par les biochimistes et par les embryologistes. Ces derniers ont constaté, depuis longtemps, les transformations des enclaves dans les cellules et du vitellus dans le sac. VIRCHOW a magistralement décrit l'évolution du liquide périlécithique. Nous avons vu que, dans le vitellus au huitième jour de l'incubation, des sphères et des sphérules se colorent progressivement par le rouge neutre jusqu'à être intensément rouges. Dans le deutoplasme frais, quelques boules parviennent seules à prendre une teinte rosée.

L'absorption du vitellus digéré par l'épithélium vitellin, surtout lorsque celui-ci, s'adaptant à sa fonction, revêt d'une seule couche les plis ou villosités de la vésicule ombilicale, chez le Poulet, paraît de même un fait acquis. Il est vraisemblable qu'à partir de ce stade histophysiologique l'épithélium vitellin fonctionne à la manière de l'intestin. Les cellules puiseraient dans le vitellus en digestion des produits comme des acides aminés, des savons, des acides gras, de la glycérine, peut-être des hydrates de carbone. Il y aurait probablement ensuite reconstitution endocellulaire des enclaves grasses, en rapport, comme dans l'intestin, avec une activité lipasique réversible. Par contre, *l'hypothèse d'une reconstitution d'enclaves protéiques à partir des acides aminés absorbés paraît*

purement gratuite. Elle a pu servir à étayer une théorie, mais les faits ne lui sont pas favorables, puisque le vitellus déposé sur les colonies d'épithélium vitellin riche en enclaves, ou sur celles de cellules vitellines qui en sont dépourvues depuis longtemps, ne provoque qu'une surcharge de boules lipidiques.

De plus, *la cellule vitelline a la propriété de sécréter elle-même des enclaves, bien que n'ayant pas de vitellus à absorber et — ce qui fournit une démonstration expérimentale du phénomène — quoique débarrassée depuis plusieurs mois du deutoplasme qu'elle contenait initialement* (ANDRÉ THOMAS, 1935). Cette sécrétion est mise en évidence dans l'aire avasculaire ; elle semble commune à toutes les cellules de l'entoblaste vitellin, chez la Poule. Les grains de sécrétion sont d'abord principalement protéiques, mais ils subissent des modifications rapides dans la cellule ; *ils finissent par constituer des enclaves lipoprotéiques qui, comme nous l'avons analysé en détail, sont comparables, par leur aspect, leur composition histochimique qualitative et leur évolution, aux enclaves du vitellus dont est chargée la cellule vitelline dans la vésicule ombilicale.*

Le produit élaboré ne ressemble pas aux grains de sécrétion des autres cellules glandulaires, même lorsque ceux-ci sont lipoprotéiques ; il représente une variété de vitellus ; il entre ensuite en digestion dans la cellule même, puis est excrété. Il apparaît chaque fois, d'autre part, et en quantité, dès que les cellules vitellines sont mises dans des conditions favorables à leur activité élaboratrice ; *cette fonction paraît donc caractériser l'entoblaste vitellin, au même titre que le sont, par leurs produits d'élaboration connus, d'autres épithéliums cultivés in vitro.* Il est très probable que cette sécrétion d'un corps comparable au deutoplasme par l'épithélium entoblastique de la vésicule ombilicale existe *in vivo*, et qu'elle y sera retrouvée par les travailleurs qui entreprendront l'étude cytophysiologique de ce tissu.

Nous sommes amenés maintenant, par le fait de cette sécrétion, à examiner théoriquement, d'un point de vue différent de ceux de nos prédécesseurs, l'origine des enclaves que l'on trouve dans l'entoblaste de la vésicule ombilicale chez la Poule. Nous nous poserons trois questions.

Les enclaves entoblastiques résultent-elles seulement de la coalescence des grains de vitellus phagocytés ? Nous avons été conduits, précédemment, à considérer la phagocytose des grains entiers comme possible, mais comme ne rendant pas compte expérimentalement de la formation *directe* des enclaves. Si cette capture existe dans les premiers stades du développement, il reste à expliquer les dissemblances que les enclaves présentent entre elles ; pourquoi, par exemple, les grains englobés ont-ils fusionné en masses uniquement jaunes ou blanches, de composition quantitative non semblable, quoique situées côte à côte ? De plus, d'autres différences existent, vraisemblablement, entre le vitellus des enclaves épithéliales pris dans son ensemble, même dans les stades initiaux, et celui de la cavité du sac vitellin ; il se pourrait que le premier soit plus riche en protéines ; les groupements sulfhydrilés y sont abondants pendant la digestion ; il n'en est pas ainsi dans le deuxième, même au huitième jour de l'incubation, qu'il s'agisse de la masse centrale épaisse ou de la couche périphérique liquide et pâle.

Les enclaves sont-elles initialement et directement élaborées avec les produits d'absorption du vitellus digéré ? Il faudrait admettre, dès le début du développement de l'entoblaste, la possibilité d'une absorption sélective de produits solubles ou émulsionnés. Comme le vitellus de la vésicule ombilicale n'est pas encore en digestion, les cellules devraient digérer au moins la couche deutoplasmique à leur contact, puis l'absorber. Cela ne semble pas impossible, mais, — de même que dans l'hypothèse d'une reconstitution secondaire des enclaves dans les cellules, lorsque le deutoplasme de la cavité est réellement digéré, — comment y aurait-il formation d'enclaves autres que de graisses ? Or, nous avons affaire, dans les cellules, à du vitellus à l'état de complexe lipoprotéique, d'abord non digéré.

Les enclaves jaunes et blanches sont-elles sécrétées par la cellule vitelline ? Ce processus paraît vraisemblable d'après mes recherches. Mais où la cellule, surtout dans l'aire avasculaire, prend-elle les aliments qui lui sont nécessaires ? Deux expériences suggèrent une réponse. Chez les colonies entretenues pendant une longue durée, *in vitro*, l'entoblaste dépourvu

de deutoplasme sécrète quelque temps des enclaves nouvelles en prélevant au milieu ses matériaux. Chez les cultures en liquide de TYRODE pur, les cellules riches en deutoplasme consomment leurs propres réserves et élaborent avec les produits qu'elles résorbent de nouveaux grains de sécrétion. Il est probable, *in vivo*, que l'épithélium, après avoir épuisé ses réserves originelles, utilise précocement le vitellus de la cavité, soit par absorption sélective dès que la digestion y commence, sous son influence, soit par phagocytose et digestion rapide des grains qui, dans ce cas, servent uniquement de nourriture. Ensuite, les enclaves néoformées sont excrétées dans la cavité de la vésicule ombilicale.

Reste à prévoir, par hypothèse, la signification des phénomènes de sécrétion et d'excrétion mis en évidence, en ce qui concerne la résorption du vitellus.

La cellule vitelline ayant sécrété activement ses enclaves, *in vitro*, commence à les digérer et les excrète pendant qu'elles sont en digestion. Un tel processus, *in vivo*, peut être en rapport avec la formation du liquide périlécithique, puis avec la digestion du vitellus de la cavité de la vésicule ombilicale. Les enclaves excrétées sont le substrat d'une grande part des ferments (ce qui n'exclut nullement l'émission supplémentaire directe de diastases) et fournissent, probablement, un intermédiaire chimique utile à la transformation du deutoplasme : elles constituent un produit qu'on peut nommer : *co-vitellus* ou *vitellus adjuvant*, déversé dans le sac vitellin. Il est plausible, en outre, de supposer, étant donné le phénomène fréquent que nous avons décrit, *in vitro*, sous le nom de clasmotose vitelline, que des fragments de cytoplasme chargés de sécrétion se détachent des cellules de l'entoblaste et flottent dans le vitellus. Nous y avons observé, au huitième jour de l'incubation, des sphères amiboïdes composées de sphérules.

Les enclaves épithéliales jaunes et blanches ne nous paraissent donc pas le résultat *direct* de la phagocytose des grains deutoplasmiques, ni, dans les stades évolués, le fruit de la reconstitution figurée de produits issus du vitellus digéré (REMOTTI, etc...) ; il semble qu'on soit autorisé à concevoir qu'elles sont sécrétées par l'entoblaste vitellin ; ce tissu prend ainsi la valeur d'une *glande vitelline*. Lors de la digestion intracellulaire des enclaves sécrétées, des sphères basophiles persistent assez longtemps, ce sont des décombres et non des édifices en reconstruction.

La mérite de REMOTTI est d'avoir suivi le développement des activités diastasiques dans le vitellus, en rapport avec l'évolution de l'épithélium : les ferments paraissent en grande partie transportés par le *co-vitellus*.

Lorsque l'épithélium, après la mort ou l'arrêt du développement de l'embryon, continue à croître, *in vivo*, ou à proliférer, *in vitro*, comme cela résulte des expériences de GRODZINSKI et des miennes, la réapparition des enclaves, observées par REMOTTI, doit être l'expression d'une manifestation nouvelle de l'activité sécrétoire. Celle-ci est peut-être responsable, dans les expériences de REMOTTI, de la prolongation expérimentale du fonctionnement du sac vitellin. Il serait intéressant, de ce point de vue et de celui des auteurs qui considèrent l'entoblaste comme le siège d'une sécrétion d'hormone, de reprendre de telles investigations en utilisant, non le vitellus cavitair, mais des extraits de l'épithélium frais, prélevé à l'état pur ou cultivé.

La cellule vitelline, comme plusieurs autres éléments glandulaires, manifesterait une double activité fonctionnelle à un même pôle : d'une part, sécrétion et excrétion ; d'autre part, absorption. Dans la première phase du développement du sac vitellin (épithélium stratifié des aires vasculaire et surtout avasculaire), l'excrétion du co-vitellus et l'absorption s'effectueraient du côté du deutoplasme de la cavité de la vésicule ombilicale (rien n'empêche, semble-t-il, qu'une certaine part de la sécrétion soit transmise au mésoblaste par quelques cellules vitellines). Dans la deuxième phase (épithélium simple), l'activité sécrétoire diminuerait progressivement, et la fonction d'absorption deviendrait prédominante : le vitellus en digestion, absorbé à un pôle de la cellule, serait probablement excrété — à un état de dégradation plus complet — par l'autre pôle, du côté des vaisseaux. Sur ce dernier point, nous sommes théoriquement d'accord avec les auteurs et en particulier avec REMOTTI. Il se peut que, finalement, une partie du deutoplasme passe dans l'intestin (E. KNACKE).

La cellule vitelline, chez la Poule, est donc un élément glandulaire qui semble sécréter les enclaves qu'il contient. Celles-ci constituent un co-vitellus, qui entre lui-même en digestion. Ce produit serait excrété dans la cavité de la vésicule ombilicale. Il transporterait la plus grande part des ferments et, vraisemblablement, des substances utiles à la transformation de la masse deutoplasmique.

Cette conception est suggérée par des faits ; nous ne savons pas s'il y a une nécessité physico-chimique expliquant cette complication physiologique. Il est curieux de considérer que la résorption du vitellus de la vésicule semble liée à la sécrétion d'un co-vitellus par les cellules vitellines, tandis que l'élaboration du deutoplasme est elle-même aidée par le passage dans l'ovule de substances élaborées par les cellules

folliculaires ; la démonstration cytologique de ce fait connu est donnée dans quelques cas [BRAMBELL (1925) chez la Poule ; substance prévittelline de YUNG KO CHING (1930) chez les Céphalopodes ; des données comparables sont fournies chez les Reptiles par BHATTACHARYA (1925), BHATTACHARYA, DAS et DUTTE (1928)].

L'élaboration de vitellus ne semble donc pas réservée seulement à l'ovule : la cellule vitelline sécrète aussi une variété de deutoplasme.

A titre d'hypothèse de travail, on peut supposer, en outre, que les enclaves trouvées par la majorité des auteurs dans la cellule vitelline des Mammifères et de l'Homme sont le produit d'une sécrétion plus ou moins analogue à celle de l'épithélium vitellin, chez la Poule. Elles ne traduisent pas le résultat de l'élaboration du vitellus absorbé (BRANCA) ; elles sont les témoins, phylogénétiquement persistant, de la sécrétion du co-vitellus déversé dans la cavité de la vésicule et mis en évidence chez un animal à deutoplasme très considérable. Elles doivent continuer, néanmoins, à jouer un rôle au cours du développement de l'embryon et de ses annexes. Nous arrivons donc à une conception voisine, pour une part, de celle de JORDAN. Lorsque la sécrétion est abondante (1), le liquide doré décelé dans la vésicule ombilicale, chez l'Homme, par exemple, est du vitellus entoblastique.

CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE

1° Des fragments de la paroi de la vésicule ombilicale, chez l'embryon de la Poule, sont prélevés à des régions et à des stades divers, puis explantés. Ces essais conduisent à élaborer une technique d'isolement de l'entoblaste vitellin (1933). Ce feuillet, provenant de l'aire avasculaire, est détaché de l'entoblaste le quatrième jour de l'incubation, puis cultivé à l'état pur en

(1) Les enclaves signalées ont paru principalement albumineuses. Il faut remarquer que le vitellus dont il est question doit varier selon les espèces, et que les descriptions portent sur du matériel où les lipides ont été en partie dissous. Il conviendrait d'analyser la composition histochimique des enclaves des cellules vitellines des Mammifères, à l'état frais, sur coupes à congélation et dans le tissu cultivé. L'intensité de la sécrétion et de l'excrétion pourrait être modifiée, pour étude, par des substances pharmacodynamiques.

goutte pendant ou en flacon. Originellement syncitial, il se développe sous forme d'une mosaïque épithéliale typique de cellules séparées par une membrane et remplies de très grosses enclaves de vitellus qui entrent en digestion.

2° Les courbes de croissance des cultures pures montrent que l'épithélium vitellin est le tissu qui s'accroît le plus rapidement *in vitro*. Les colonies très régulières deviennent géantes. Elles peuvent initialement utiliser, dans une certaine mesure, les protéines du sérum; leur taille finale, sans facteur de croissance (227 millimètres carrés, le sixième jour), est supérieure à celle des autres épithéliums purs cultivés avec de l'extrait d'embryon à une concentration optima. L'entoblaste isolé a un développement plus considérable que lorsqu'il est associé à l'ectoblaste dans les explants d'aire avasculaire totale. Le liquide des cultures en flacon, même s'il n'est pas renouvelé pendant sept jours, reste légèrement alcalin (pH 7,2).

3° Les cellules vitellines, tout d'abord polyédriques, atteignent ou dépassent 100 μ de longueur; leur noyau arrondi, gonflé de suc, a un diamètre de 16 μ , quelquefois de 25 μ . Elles peuvent constituer des plasmodes multinucléés mesurant 600 μ . On observe, en outre, dans les colonies, la présence d'éléments de taille réduite, pourvus d'un petit noyau, ou fréquemment, de quelques autres arrondis (de 6 μ ou même moins), à côté d'un gros, dans une même cellule. Les constituants figurés du cytoplasme sont représentés par quelques petites vacuoles entourant le noyau; par des chondriocotes grêles, abondants, assez longs et par des mitochondries disposées entre les enclaves. Pendant l'accroissement des cultures, les éléments s'étalent; ils restent réunis par de larges lames hyaloplasmiques fragiles; celles-ci se rétractent sous l'action de substances saponifiantes. Les cellules vitellines captent les grains d'encre de Chine, accumulent plus ou moins intensément le trypano-bleu et le carmin lithiné. Ces produits sont retrouvés dans les enclaves de vitellus en digestion et dans la bordure endoplasmique qui les entoure; le deutoplasme paraît être responsable, en grande partie, des propriétés colloïdopexiques. Les érythrocytes ne sont pas phagocytés, mais lentement digérés par le liquide de culture. Il semble en être de même du vitellus ajouté.

4° Les enclaves deutoplasmiques jaunes ou blanches, mesurant jusqu'à 60 et 80 μ de longueur, sont progressivement transformées en boules de glycérides dans l'endoplasme, très vraisemblablement par l'action de lipases et de protéases. Elles présentent, parfois, des mouvements lents et alternatifs de rotation sur elles-mêmes, analogues à ceux de certains noyaux. On y observe, au cours de la digestion, des rapports extrêmement variés entre des substances basophiles, acidophiles, retenant les colorants basiques vitaux, imprégnables par l'argent. On y caractérise des lécithines, du cholestérol et probablement ses esters, des acides gras, du glycogène, des protides et des produits qui en dérivent (groupements sulphydrilés, composés phénoliques, peut-être aussi indoliques) du fer, du soufre organique, enfin des peroxydases et — semble-t-il — des phénolases. Une étude spéciale est consacrée (p. 287) à la structure du vitellus en digestion, à certains résultats

de l'étude histochimique détaillée et, spécialement, à ceux des réactions plasmale et nucléale.

5° Le rythme et les modes de multiplication de l'épithélium vitellin dépendent de la digestion intracellulaire du deutoplasme. Les caryocinèses cessent assez vite de se produire; elles peuvent ne pas apparaître. La multiplication intense se poursuit par endoamitose et, surtout, à la suite d'un processus particulier, vérifié à l'état vivant: la formation de petits noyaux par division directe d'une partie des gros, puis, éventuellement, de petites cellules après plasmodiérèse.

6° Quand la croissance des cultures est ralentie ou arrêtée, les cellules, tout en digérant leurs enclaves, en libèrent d'autres de moindre taille, ainsi que des grains de vitellus très nombreux. On observe encore que de longs prolongements cytoplasmiques chargés de deutoplasme se rompent et constituent des enclaves libres à substrat amiboïde, phénomène désigné sous le nom de clasmatose vitelline.

7° Les colonies épithéliales pures édifient un système de fibres réticulaires et de gros faisceaux; ceux-ci acquièrent la plupart des caractères des substances collagènes (1935). Ils ont une disposition architectonique qui représente une ébauche d'organisation de l'appareil de soutien, due à la structure histiotypique. Ils se développent près du bord épithélial, sans rapport génétique avec ceux de l'explant. Les fibres naissent hors du cytoplasme dans une substance fondamentale recouvrant l'épithélium et qui résulte de l'action des cellules sur le milieu de culture, ou sur les matériaux provenant de leurs propres réserves. L'augmentation du taux des protéines dans le milieu provoque un accroissement très important de l'élaboration de substance intercellulaire. Les cultures en liquide de TYRODE pur édifient encore un appareil fibrillaire; mais, dans ce cas, la matière interstitielle est utilisée entièrement, elle n'est plus apparente entre les fibres.

8° Les colonies qui ont atteint leur taille limite ne conservent jamais longtemps la structure épithéliale sous peine de dégénérescence. Les cellules se disposent en un réseau qui a la signification d'un stade évolutif, puis émigrent. On peut réussir à les entretenir par passages en goutte pendante, en observant directement leur transformation. Elles digèrent leur vitellus originel jusqu'à en être complètement dépourvues, recommencent à se multiplier par caryocinèse — le nombre des chromosomes étant le même qu'au début de la prolifération de l'épithélium (30 à la métaphase) — et adoptent progressivement et définitivement la forme et la structure histiotypique des colonies de fibrocytes (1933). Elles deviennent polarisées par suite du groupement des vacuoles le long d'un côté du noyau ovale. Elles peuvent être repiquées pendant plusieurs mois et sans doute indéfiniment, de la même façon qu'une souche conjonctive. Éphémères *in vivo*, elles acquièrent la pérennité *in vitro*.

9° La variation porte aussi sur leurs propriétés physiologiques. Les cellules vivent dès lors dans l'épaisseur du coagulum nutritif; elles n'accablent plus l'encre de Chine, ni le trypano-bleu, ni le carmin lithiné. Elles

se chargent, toutefois, d'enclaves grasses, où l'on caractérise des lipines, si du vitellus est déposé sur les cultures. La surface finale des colonies, au sixième jour, en présence d'extrait embryonnaire, est au moins 4 fois plus petite que celle de l'épithélium; la possibilité d'utiliser en partie les protéines du sérum est perdue; l'énergie résiduelle de croissance diminue de plus de cinq fois; le pouvoir fibrinolytique disparaît. La disposition des fibres réticulaires et des faisceaux collagènes est celle des populations mésenchymateuses.

10° La démonstration expérimentale des propriétés sécrétoires de l'entoblaste vitellin est fournie par les cultures transformées. Celles-ci, bien que dépourvues de deutoplasme depuis plusieurs mois, sécrètent et excrètent des grains et des enclaves lorsqu'elles sont en multiplication ralentie. Ce produit de sécrétion est comparable par son aspect, ses réactions histochimiques et son évolution, aux masses de vitellus dont les cellules sont remplies initialement (1935). Il est élaboré dans les vacuoles polarisées, sans participation apparente du chondriome. Les jeunes grains, d'abord basophiles, s'enrichissent progressivement en substances lipiniques; ils fusionnent en assez grosses enclaves qui se rassemblent à un pôle d'accumulation, puis commencent à être digérées dans les cellules elles-mêmes. La présence d'ovalbumine dans le milieu de culture contribue à augmenter la teneur de ce deutoplasme en matières protéiques.

11° La transformation des cultures pures d'épithélium vitellin, en fonction de l'utilisation et de la réapparition des réserves, permet donc de suivre, pendant une longue période, les variations de plusieurs phénomènes histophysiologiques, de les analyser dans des conditions connues et de les interpréter (Discussion, p. 373).

L'hypothèse de l'épuisement de l'énergie résiduelle de croissance par disparition de substances protéiques capables de fournir des groupements sulphydrilés ne s'applique pas à l'épithélium vitellin. Les cellules transformées, bien que sécrétant du deutoplasme ou mises en présence de vitellus, ne récupèrent pas la disposition épithéliale; il semble y avoir un facteur propre de coalescence, caractérisant la structure épithéliotypique et qui est définitivement perdu.

Le système vacuolaire proprement dit du cytoplasme doit être distingué des zones d'hydrolyse provoquées par la digestion des enclaves. Après la disparition de celles-ci, les quelques petites vacuoles polarisées qui subsistent dans la cellule sont les témoins d'une zone de GOLGI, dont on suit à nouveau la formation au cours de la sécrétion. Elle est constituée par des vacuoles, des chondriocontes et une substance lipinique qui provient du cytoplasme fondamental, enrichi lui-même par la résorption des enclaves. La zone de GOLGI contient d'autant plus de lipines que celles-ci sont libérées en plus grande quantité dans le cytoplasme alentour.

On discute du rôle de l'appareil de GOLGI et du chondriome en général.

Il semble que l'interface chondriosome-cytoplasme puisse être considérée comme siège initial de l'élaboration qui se poursuit — ou débute peut-être

aussi dans d'autres cas — à l'interface cytoplasme-vacuole, aboutissant, avec l'aide de toute la cellule, à la production d'un grain de sécrétion.

12° Le fait que la cellule vitelline sécrète un produit comparable au vitellus — sans que cette propriété soit liée à l'absorption d'une masse deutoplasmique extracellulaire — pose d'une façon nouvelle le problème obscur de la signification des enclaves de l'entoblaste vitellin ainsi que celui du fonctionnement de ce tissu, *in vivo*. On envisage les hypothèses possibles, en discutant les résultats des auteurs. La cellule vitelline, chez la Poule, semble sécréter les enclaves qu'elle contient. Celles-ci constituent un co-vitellus qui entre lui-même en digestion. On suppose que ce produit est excrété dans la cavité de la vésicule ombilicale, qu'il y transporte la plus grande part des ferments et, vraisemblablement, des substances utiles à la préparation de la masse deutoplasmique avant sa résorption.

DEUXIÈME PARTIE

LA TRANSFORMATION DE LA CELLULE VITELLINE ÉPITHÉLIALE EN CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE

INTRODUCTION

En février 1933, des cultures d'entoblaste vitellin de cinquante-trois heures, au troisième passage, sont ensemencées en flacon de CARREL. Les cellules vitellines prennent ultérieurement l'aspect de fibrocytes. Entre ces cellules fusiformes, on en observe de libres et arrondies. Après réparation du coagulum, lorsqu'il y a liquéfaction, les zones de protéolyse sont réhabitées, à la fois, par les cellules allongées et par les éléments arrondis. Dans la suite, ces cultures sont de nouveau passées en goutte pendante, en présence d'extrait d'embryon ; les cellules fusiformes deviennent prédominantes.

En mai suivant, des cultures d'entoblaste vitellin en flacon sont recouvertes de plasma hépariné ; celui-ci coagule. Les colonies épithéliales se trouvent donc enfouies ; leur croissance est ralentie. Le onzième jour, on aperçoit une auréole formée par de petites cellules libres autour d'une culture épithéliale. Cette auréole secondaire s'accroît de plus en plus, mais dans l'épaisseur du coagulum. Les petites cellules libres se disposent souvent en chaînes ou en îlots ; elles ont une membrane ondulante, deviennent ensuite plus allongées et plus espacées. La nappe épithéliale, par contre, entre peu à peu en régression. Un deuxième cas analogue est observé dans les mêmes conditions.

Le même fait ne se renouvelle qu'en mars 1934. Il survient dans des cultures pures d'entoblaste vitellin en flacon, cinq jours après un chauffage accidentel à 42°. Une série de stades de l'évolution à l'état vivant des cellules vitellines est photographiée. C'est alors que je constate, avec étonnement, que les cellules vitellines, quoique épithéliales et entoblastiques, engendrent elles-mêmes directement, sans caryocinèse, des éléments libres à membrane ondulante.

Peu de temps après, en juin 1934, ces transformations sont reproduites par voie expérimentale ; en juillet, la série des stades vi-

vants est photographiée à nouveau, d'une façon plus détaillée. Le phénomène est signalé, dans une note succincte, dix-huit mois après le début des observations initiales ; mais ce n'est qu'en novembre 1935 que la systématisation en est résumée. A ce moment, la genèse des cellules libres à membrane ondulante a été suivie directement à l'objectif à immersion, du commencement à la fin. Tous les stades ont été dessinés à la chambre claire. Les observations sur le matériel vivant ont été confirmées, en partie par l'enregistrement cinématographique, et complétées par l'examen des préparations cytologiques colorées. Enfin, la procédure permettant de provoquer expérimentalement cette variation des cellules vitellines épithéliales a été trouvée. Signalons, dès maintenant, que les mécanismes cytologiques ont la même apparence, que la transformation soit spontanée, ou provoquée par voie expérimentale.

Les recherches qui vont être rapportées montreront que la cellule vitelline épithéliale, dans les cultures pures, donne naissance, elle-même, à des éléments du type histiocyte, par un procédé nouveau de multiplication directe. Celui-ci a été suivi sur la cellule vivante, mais non sans difficultés. Il a fallu inaugurer, à cet effet, des techniques particulières. Lorsque, dans la suite, une étude expérimentale a permis de provoquer dans un grand nombre de cas l'apparition de cellules du type histiocyte, il a été possible de constater que leur mode de formation a toujours été le même et chaque fois sans caryocinèse. Enfin, nous allons voir, en outre, que les cellules néoformées prennent des caractères de forme et de fonction analogues à ceux des macrophages et des histiocytes mésenchymateux. Nous désignerons celles-ci par les termes de macrophages et de cellules du type histiocyte ; nous pensons justifier ces appellations par des faits.

CHAPITRE PREMIER

La formation de cellules du type histiocyte dans les cultures épithéliales pures d'entoblaste vitellin.

1. — LES MODES D'APPARITION DES CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE.

La transformation de cellules vitellines épithéliales en macrophages ou en éléments du type histiocyte survient lorsque la croissance des colonies d'entoblaste en flacon est près d'être terminée ou, le plus souvent, lorsque celle-ci l'est depuis quelques jours.

Il vient d'être indiqué, dans l'introduction de cette deuxième partie, que des cellules du type histiocyte créées par les cellules vitellines peuvent apparaître et se multiplier sous forme d'une auréole de croissance sous l'épithélium, puis dépasser la limite d'extension du bord épithélial.

Parfois, la transformation se manifeste seulement dans un groupe de quelques cellules vitellines. Tandis que celles-ci disparaissent peu à peu, les éléments du type histiocyte néoformés se multiplient et se disposent en ilots. Les zones de variation s'observent assez fréquemment à la périphérie des cultures ; près des régions de protéolyse — quand il en existe — des plages plus ou moins étendues de cellules vitellines subissent aussi, simultanément, cette évolution.

Il arrive, comme cela a été observé au cours d'interventions expérimentales, que la transformation se révèle dans des régions disséminées de l'épithélium. On voit apparaître, ici ou là, des cellules histiocytaires à partir de nombreuses cellules

vitellines, dans la nappe épithéliale; les nouveaux éléments, dans ce cas, sont toujours allongés.

2. — LA FORMATION DE CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE PAR LA CELLULE VITELLINE.

A. — *L'état vivant.*

Nous allons décrire : *a.* l'aspect général d'une série de stades, à l'état vivant, de la transformation spontanée de la cellule vitelline en éléments du type histiocyte ; *b.* une série de stades à l'état vivant, de la même transformation provoquée par voie expérimentale ; *c.* les détails cytologiques du phénomène spontané suivis directement, à 38°, à l'objectif à immersion.

a. Aspect de la transformation spontanée. — La planche XI représente quelques stades d'un cas de transformation spontanée en cellules histiocytaires, apparue le seizième jour dans une culture pure, en flacon. La série des neufs clichés intéresse le même îlot de cellules, repéré et photographié à l'état vivant, au même grossissement, au fur et à mesure de son évolution.

Soit une grande cellule vitelline plurinucléée C, au premier jour de l'observation (stade 1) ; il s'agit vraisemblablement d'un plasmode plutôt que de quelques éléments accolés (ce qui ne changerait rien à l'interprétation des faits). Autour de ce plasmode sont des cellules libres et mobiles qui viennent d'apparaître dans la culture ; elles sont relativement peu nombreuses et chargées de vitellus en digestion et de graisses. Les photographies, de 2 à 6, prises le même jour, montrent de profondes modifications dans le plasmode C. Stade 2, quatorze heures après le stade 1, alors que les cellules libres se sont multipliées, d'autres tendent à s'individualiser à la périphérie du plasmode. Celles-ci, deux heures trente plus tard, stade 3, sont en libération autour de C. Stade 4, une heure trente après le stade 3, elles sont libres et constituent une couronne autour de C ; quelques-unes sont vues dans un plan supérieur. Au stade 5, deux heures après le stade 4, puis au stade 6, deux heures quinze plus tard, C disparaît progressivement et se réduit à l'état d'un îlot globuleux de petites cellules. Au stade 7, le troisième jour, treize heures quinze après le stade 6, ces phénomènes sont très accentués. La place de C est seulement marquée par un groupe de cellules dont quelques-unes sont encore agglutinées. Le quatrième jour, au stade 8, seul un petit agglutinat révèle la

place où se trouvait auparavant le grand plasmode C. Les cellules libres alentour se sont multipliées et espacées ; elles s'allongent ; certaines d'entre elles ont des prolongements. Enfin, au sixième jour, stade 9, il ne reste, à la place de C, que quatre cellules libres groupées. Toutes les autres ont émigré et ont contribué à accroître l'ilot vu au début de l'observation. Elles sont maintenant très espacées, libres, mobiles, arrondies ou ramifiées et pourvues de voiles hyaloplasmiques ondulants.

En somme, cette observation montre qu'une grande cellule vitelline plurinucléée en a formé une série d'autres, nombreuses, petites, libres, mobiles, à hyaloplasme ondulant, sans qu'on ait observé de caryocinèse à l'état vivant. Les stades 2 à 6 indiquent que cette évolution s'est effectuée d'une façon rapide et presque complète, en dix heures quinze minutes.

b. *Aspect de la transformation provoquée.* — Les planches XII et XIII représentent l'évolution de cellules vitellines épithéliales repérées, se transformant en éléments du type histiocyte, à la suite d'un traitement expérimental par la soude en solution à M/100 dans le liquide de Ringer, sous certaines conditions (Voir p. 537). Insistons sur le fait qu'il s'agit bien, toujours, des mêmes cellules, photographiées à des stades différents, à un même grossissement faible ; puis à un autre, plus fort. Elles ont été désignées, pour la commodité de l'exposé, par les lettres A, B, C, D ; la zone occupée par les petites cellules-filles issues de chacune des cellules-mères a été entourée d'un cercle.

Au stade 1 (Pl. XII, 1 et XIII, 1), les quatre grandes cellules à hyaloplasme rétracté, chargées de vitellus, sont au début des phénomènes de transformation, au quinzième jour d'une culture en flacon. On voit que A émet des lobopodes, que D a deux gros noyaux et qu'alentour sont d'autres petits éléments plus ou moins pourvus de vitellus en digestion. Vingt-quatre heures après (stade non figuré), A et D sont déjà très modifiées ; A a donné naissance à plusieurs petites cellules libres et a diminué de volume ; D est moins avancée dans son évolution. Quarante-deux heures après le stade 1 (Pl. XII, 2), A et D sont réduites à l'état d'une couronne de petites cellules dans des plans différents ; celles résultant de D sont déjà espacées. B, encore reconnaissable, est en train d'en émettre une série ; l'allure générale de C a peu changé. Sept heures après le stade 2 (Pl. XII, 3),

la place qu'occupait A n'est plus indiquée que par une couronne de petites cellules espacées. Celles issues de D ne sont plus identifiables, car elles sont dispersées. C est toujours assez peu modifiée. B, que l'on voit aussi au fort grossissement (Pl. XIII, 2), diminue de plus en plus de volume, tandis qu'elle émet un nombre considérable de petites cellules souvent arrondies ou faiblement allongées et assez chargées de vitellus en digestion. Quinze heures après (Pl. XII, 4), le groupe des cellules-filles de A n'est à son tour plus individualisable. B continue de s'amenuiser. C, toujours globuleuse et qui a peu diminué de taille jusqu'ici, émet à son tour plusieurs petits éléments libres. Enfin, vingt-quatre heures plus tard, au cinquième jour de l'évolution (Pl. XII, 5), la région où se trouvait B est transformée presque complètement à l'état de nombreuses cellules libres encore un peu groupées ; les unes, arrondies, sont chargées de vitellus en digestion ; les autres sont claires, légèrement allongées et pourvues de membranes hyaloplasmiques ondulantes (Pl. XIII, 3) ; C émet à son tour de multiples petites cellules libres. D'autres grandes cellules, voisines de C (Pl. XIII, 4), subissent également la même transformation.

En résumé, chaque grande cellule vitelline donne naissance directement, en série, à de nombreux petites éléments transformés, qui, comme nous le verrons, sont des macrophages ou des cellules du type histiocyte. La création des cellules-filles se poursuit jusqu'à ce que les cellules-mères aient distribué toute leur propre substance et qu'elles aient disparu entièrement. La vitesse de ce phénomène est variable selon les cas considérés. A et B se sont transformées d'une façon totale en deux jours environ. C, après cinq jours, était encore en pleine période de transformation. B, au cours de ces cinq jours, a disparu progressivement et totalement, tandis qu'elle a créé une série importante de petites cellules-filles. Pendant les périodes d'observation, il n'y a pas eu de caryocinèse chez les cellules vitellines mères.

c. Le détail des stades vivants de la transformation spontanée.

— Lorsqu'on suit ce phénomène de transformation dans les cultures pures à l'état vivant, jusqu'à la disparition des cellules vitellines faisant place à de nombreuses autres du type histiocyte, que l'on voit naître, on se rend compte qu'il s'agit, probablement, d'un mode nouveau de multiplication. Mais il convient de pénétrer plus avant dans le détail de ce méca-

nisme et de chercher à savoir comment les petites cellules s'individualisent au sein de la mère, puis sont libérées.

Nous avons essayé, JEAN PAINLEVÉ et moi, d'analyser ce phénomène à l'aide du cinématographe. Les images obtenues sont difficiles à interpréter, de même que celles révélées par les photographies sériées. Un enregistrement, poursuivi pendant sept heures quarante, d'une façon continue, permet toutefois d'affirmer que, durant ce temps, une grosse cellule vitelline a émis, sans une seule caryocinèse, des cellules libres à membrane ondulante. Au moment de la libération de l'une d'elles, le film montre qu'une région du cytoplasme de la cellule-mère subit une petite rétraction brusque, comme s'il s'agissait, — au moins dans la représentation accélérée du processus, — d'une secousse réactionnelle. Mais le gros élément en train d'émettre des cellules du type histiocyte est globuleux, extrêmement chargé de vitellus en digestion ; la mise au point, au très fort grossissement, ne peut être que moyenne pour l'ensemble ; les phénomènes nucléaires ne sont pas enregistrés d'une façon satisfaisante. De plus, le dyschronisme, que nous remarquerons plus loin, entre la longue période de transformation de la cellule-mère et la durée assez brève de la création de chaque cellule-fille, au cours de cette même période, est une des causes principales de la difficulté de ces prises de vues. Celles-ci pourraient être réussies cependant, dans les mêmes conditions que celles de l'expérience décrite dans les pages qui suivent, mais elles doivent être poursuivies pendant plusieurs heures, et de tels films sont très onéreux.

Il était donc nécessaire d'arriver à saisir directement, au fort grossissement, tous les stades permettant de reconstituer puis d'interpréter l'évolution complète et spontanée de la cellule vitelline épithéliale, en nombreuses cellules-filles à membrane ondulante. La seule technique, pour ces observations, est de repiquer en goutte pendante des cultures qui subissent spontanément cette transformation dans des flacons de CARREL, ou de monter en goutte pendante la lamelle amovible de mon type de flacon. Soulignons encore la difficulté de ces examens : les cellules naissantes sont peu visibles lorsqu'elles sont, comme cela arrive, pauvres en vitellus ; on ne doit pas cesser de les suivre, sous peine de ne pouvoir les identifier.

L'apparition des éléments du type histiocyte a lieu, sous forme d'un petit lobe, dans la région du noyau de la cellule

vitelline, au-dessus du plasmosome, sur la face tournée du côté de la lamelle, c'est-à-dire opposée à la couche d'air. Les cellules néoformées affectent souvent, aussitôt après leur naissance, l'aspect de voiles étalés sur la cellule-mère ; leurs grains de vitellus peuvent être confondus avec ceux de cette dernière. D'autres fois, au contraire, elles sont contractées ; leur visibilité est donc variable lorsqu'elles reposent encore sur la cellule-souche. A certains moments, leur noyau est bien apparent ; à d'autres, on n'en distingue pas le contour. Au début de leur émigration, elles peuvent glisser à la surface de la cellule-mère, jusqu'à en atteindre la périphérie et la quitter. Au cours de ce cheminement, les cellules néoformées repoussent parfois devant elles les enclaves maternelles ; elles s'allongent, présentent souvent, à leur extrémité postérieure, une traînée cytoplasmique qui aide à les reconnaître parmi les éléments libérés auparavant et qui reviennent au-dessus de leur mère.

Le cas rapporté ici concerne une culture épithéliale pure d'entoblaste vitellin de quatre jours, en flacon de CARREL, où la transformation en cellules histiocytaïres est apparue spontanément au septième jour ; cette colonie fut repiquée aussitôt en goutte pendante (plasma : I goutte ; extrait embryonnaire dilué : traces). Dans les jours suivants, le même phénomène s'est déclenché à nouveau dans les cellules épithéliales repiquées. Au début de la série des observations, le cinquième jour, il a été remis sur la culture une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait. Dans les conditions de cette expérience, le phénomène a été nettement ralenti par rapport à son rythme moyen en flacon. L'examen, à l'objectif à immersion, à la température de 38°, a porté globalement sur six jours, — il a été presque continu pendant les deux premières journées, — puis la culture fut fixée et colorée pour une vérification cytologique. Quarante-trois stades ont été dessinés à la chambre claire au fur et à mesure de l'évolution ; nous en figurerons vingt-huit. Pour la commodité de l'exposé, des numéros ont été donnés à un certain nombre d'éléments néoformés. Le contour des cellules ainsi que celui des noyaux avec leur plasmosome en pointillé ont été figurés seuls pour simplifier le dessin.

Une grande cellule vitelline épithéliale V, assez globuleuse, gonflée d'enclaves deutoplasmiques en digestion, a commencé à produire des éléments du type histiocyte (fig. 21, stade 1). Parmi ceux-ci, sept sont en libération au bord de V ; ils ont été formés antérieurement ; leur noyau est bien visible à ce stade ; on aperçoit même une masse chromatique

dans l'un d'eux (n° 3). La cellule V a quatre noyaux : deux de grande taille, N, le plus gros, et N' ; deux de plus petite taille, n et n' . Dans ces quatre noyaux, le plasmosome, qui supporte la majeure partie de la chromatine, est apparent. Deux cellules histiocytaïres (8 et 9), récemment individualisées, tendent à quitter (ainsi qu'il résulte des observations faites avant le stade 1) la région de N et celle de N' ; elles font divers essais d'émigration et subissent des phases d'étalement et de resserrement. Une heure et demie après le stade 1, 8 et 9 commencent à émigrer progressivement, puis quittent la cellule-mère ; ensuite, 9 devient allongée et ramifiée. Les cellules libérées 1, 2, 3, 4, 5 et 6 varient de forme ; la limite de leur noyau peut ne pas rester visible.

Au début du deuxième jour de l'observation (stade 2), V s'est allongée et un peu étranglée, le noyau N' a émigré à la partie inférieure ; cette modification est l'annonce d'une plasmodiérèse aboutissant à la séparation d'une grande cellule vitelline V', pourvue du noyau N' (stades 2 à 7) ; les noyaux N, n et n' restent dans V. On observe, autour de V, des cellules du type histiocyte vraisemblablement nouvelles : 10, 11 et 12 ; elles sont encore en relation avec V par l'intermédiaire d'un étirement cytoplasmique postérieur. Un groupe d'éléments, à la droite de V, ainsi que d'autres à la périphérie, n'ont pas été désignés. Le plasmosome du noyau N tend à se diviser en deux parties. Les noyaux n et n' sont maintenant accolés. Stade 3, les cellules 10, 11, 12, sont en émigration. Stade 4, le contour du noyau de 10 et 12 n'est pas visible.

Dans la suite (stades 5 à 8), nous avons déjà eu l'occasion de remarquer (p. 310) que N subissait une bipartition de son plasmosome, puis émettait une hernie aboutissant à la division d'un petit noyau n_1 , pendant que s'effectuait la séparation de V et de V'. A son tour N' émet un petit noyau n_2 . Dans cette phase de séparation de petits noyaux ainsi que de plasmodiérèse, il n'y a pas eu, pendant quatre heures au moins, création de nouveaux éléments. Au stade 9, la cellule 13, assez peu visible, a été formée dans la région de N ou peut-être de n_1 , que, du reste, on ne distingue plus à ce moment. Une cellule 14 apparaît sous l'aspect d'un lobe au-dessus d'une partie de n' , masquant partiellement le plasmosome. Notons que celui-ci, antérieurement bilobé ou ovale, s'est arrondi.

La cellule V' (stade 10) produit à son tour des éléments histiocytaïres ; la formation de deux d'entre eux est représentée. A la fin du deuxième jour, V' a un noyau N' et un petit noyau n_2 issu de N'. Le troisième jour au matin, la genèse de deux cellules histiocytaïres est suivie. Un lobe 1', animé de mouvements amiboïdes, se distingue sur une moitié du plasmosome et du noyau N'. Un autre lobe arrondi, 2', se développe au-dessus de la région de n_2 ; les grains de vitellus de la cellule-mère sont quelque peu repoussés, laissant un espace arrondi, libre autour de n_2 . Une demi-heure après ces observations, deux cellules histiocytaïres 1' et 2' sont nettement apparentes. 1' est encore en partie sur N' ; elle est pourvue d'un noyau visible ; 2' est elle-même constituée par un cytoplasme bien

individualisé, tandis que son propre noyau doit se confondre avec n_2 . Une heure plus tard, 1' et 2' commencent à émigrer. n_2 reste bien dans la cellule V'; il paraît avoir légèrement diminué de taille. Enfin, au bout

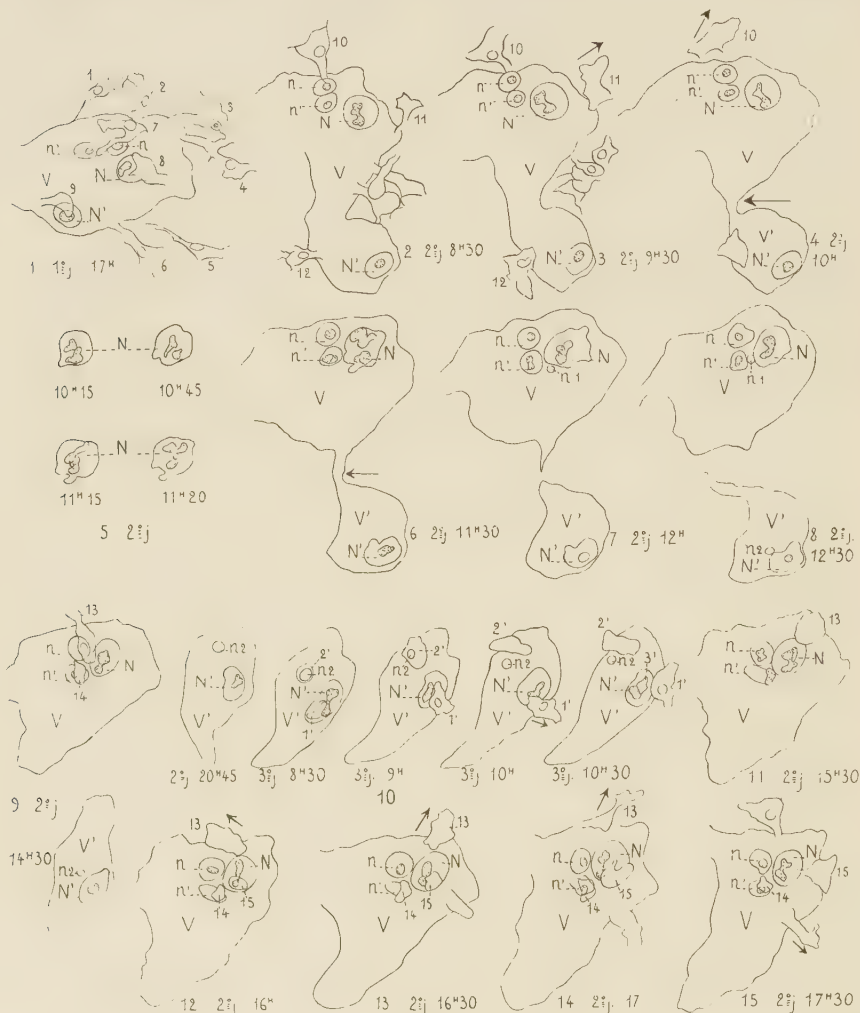


Fig. 21.

d'une demi-heure, 1' et 2' (dans cette dernière on ne distingue pas le contour du noyau) sont près de quitter la cellule-mère. Mais, à ce moment, sur la région centrale de N', à la périphérie du plasmosome redevenu arrondi, un nouveau lobe amiboïde 3' apparaît : c'est l'ébauche d'un troisième élément.

Reprenons maintenant l'évolution de V. Au stade 11, la cellule 13 est en émigration. Le lobe (ou la cellule) 14, sur n' , se confond avec le plas-

mosome. Chez le noyau N, au-dessus du nucléole plasmatique, un nouveau lobe se dessine, s'efface, puis renaît, change de forme. Au stade 12, trente minutes après le stade 11, le lobe 14, sur le noyau n' , est à nouveau

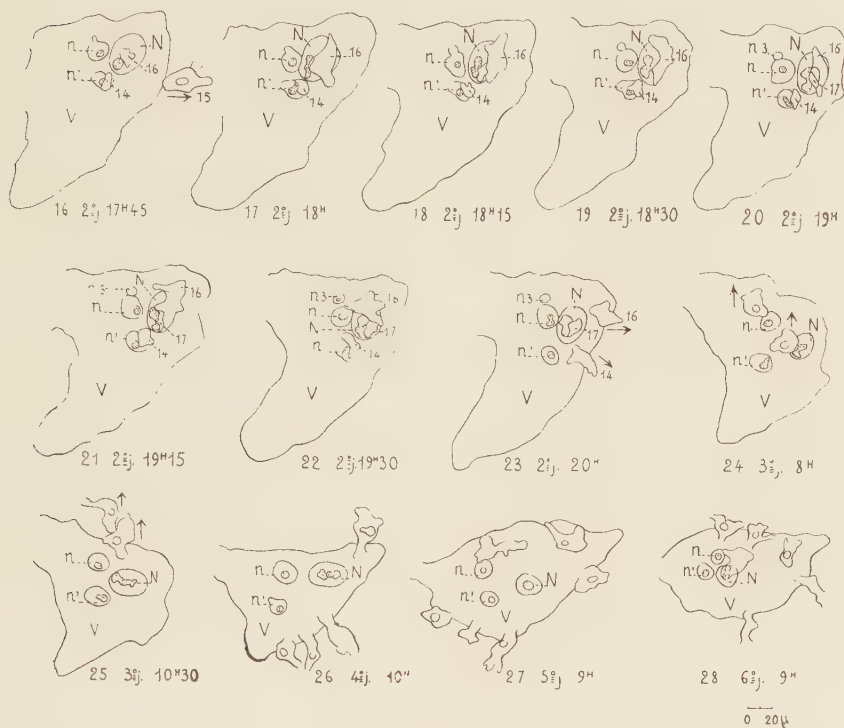


Fig. 22.

Fig. 21 et 22. — Formation spontanée et ralentie d'une série de cellules du type histiocyte par une grande cellule vitelline épithéliale.

La cellule V a quatre noyaux, dont deux d'assez petite taille : N, N' et n , n' , tous pourvus d'un plasmosome (en pointillé), supportant la chromatine. A la suite d'une plasmodiérèse entraînant le noyau N', une cellule V' se détache de V et continue à créer des cellules du type histiocyte pour son propre compte. D'autre part, de petits noyaux n_1 , n_2 , n_3 , sont émis directement par les plus gros. Les cellules histiocytaires repérées sont désignées par un numéro ; elles prennent origine, par division directe, sur une face de la cellule-mère, dans la région d'un des noyaux, sous l'aspect d'un lobe qui s'individualise plus ou moins rapidement (explications dans le texte). La cellule V diminue lentement de taille. Culture pure d'entoblaste vitellin de quatre jours en flacon (e. e. : 20 p. 100 dans le sérum du Lapin à 25 p. 100) ; transformation spontanée le septième jour et passage en goutte pendante (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces) ; le douzième jour, régénération de la culture par le même milieu et observation à l'objectif à immersion jusqu'au dix-septième jour, à 38° (le stade 1 correspond au premier jour de l'observation). Dessin à la chambre claire.

bien visible ; il est de petite taille, globuleux, doué d'amiboïsme. Un autre, arrondi, 15, s'individualise et persiste sur une partie du noyau N, et sur une extrémité globuleuse du plasmosome, rattachée au reste de cet organite par un isthme très resserré. Sur elle, est centré le lobe 15, qui grossit et fait une hernie superficielle. Au stade 13, trente minutes après,

la cellule 13 émigre dans une direction différente de celle qu'elle suivait au stade 12 ; le lobe 14 est un peu plus étalé ; 15 est en individualisation ; il est encore adhérent à la région de N. Une cellule, étalée et peu visible, est revenue sur la périphérie de V. Au stade 14, trente minutes écoulées encore, la cellule 14 s'étale suffisamment pour que le plasmosome de n' soit aperçu, sous elle, par transparence ; il semble bien que 14 soit, dès lors, indépendante de V ; la cellule 15 est séparée et commence à émigrer. Au stade 15, le contour du noyau de 13 devient visible. Au lieu d'émigrer, elle aussi, 14 est devenue très globuleuse ; enfin, au cours d'une nouvelle demi-heure, 15 a déjà partiellement quitté la cellule-mère, à laquelle elle n'adhère plus que par un tractus cytoplasmique postérieur. Le plasmosome de N a repris son aspect en sablier. Mais au stade 16 (fig. 22), quinze minutes après, alors que 15 est définitivement libérée, pourvue d'une membrane ondulante et d'un noyau dont le contour est bien visible, un lobe nouveau (16) apparaît au-dessus de la région centrale de N. Ce lobe se projette sur une zone située à la périphérie du plasmosome qui a pris l'aspect globuleux et manifeste pendant toute cette période un vif amiboïsme. Dans les stades suivants (16-20), n émet une hernie qui s'étrangle, puis se coupe en un petit noyau n_3 . Stade 17, la cellule 16 est individualisée, elle s'est étalée sur la région de N dont le plasmosome reprend, d'une façon progressive, l'apparence bilobée. Stade 18, seulement quinze minutes plus tard, un autre lobe apparaît encore dans la région inférieure de N, en bordure du nucléole plasmatique. Ce nouveau lobe (17), peu visible au stade 19, redevient bien apparent aux stades 20 et 21. Stade 22, 17 grossit ; 16 est en émigration. Stade 23, 16 est près de quitter V. Le lobe 17 est encore globuleux ; c'est l'ébauche d'une cellule, libérée, vraisemblablement, au cours de la nuit. Enfin 14, qui est restée si longtemps contractée dans la région de N' , commence maintenant sa vie libre ; elle est étalée et près de quitter V.

D'autres cellules du type histiocyte continuent d'être créées par V. On ne les a plus numérotées parce que non suivies depuis leur formation. On observe parfois dans les cellules naissantes que le vitellus en digestion prend une teinte brun doré foncé. V a diminué de taille d'une façon très apparente ; elle garde toujours ses noyaux N, n et n' . Deux cellules à noyaux bien visibles sont en libération au stade 24, à partir de la région de N et n ; elles quittent V, une heure et demie après, au stade 25. Enfin, aux quatrième, cinquième et sixième jours (stades 26 à 28), les phénomènes se poursuivent encore d'une façon analogue.

En somme, la cellule vitelline V a émis pendant six jours une série d'éléments histiocytaires, *sans entrer en caryocinèse*, tandis qu'elle-même diminuait notablement de taille. Il est probable qu'elle aurait formé des cellules du type histiocyte plus nombreuses encore, jusqu'à sa propre et complète dispa-

rition, si la culture avait été soignée dans un flacon, au lieu d'être placée dans les conditions nécessaires à l'observation au fort grossissement.

La genèse de quelques-unes de ces cellules histiocytaïres a été suivie depuis l'origine. La cellule 14 apparaît au-dessus du noyau n' ; à cette place, elle reste longtemps, plus ou moins globuleuse avant d'émigrer. Pendant ce temps, trois autres cellules naissent à la suite l'une de l'autre, dans une région voisine, sur le noyau N. Il s'écoule une heure trente entre les premiers phénomènes de lobulation, précurseurs de l'individualisation de la cellule 15 (stade 11), et le début de son émigration (stade 14). Mais quarante-cinq minutes après le stade 14, la cellule 16 est en formation sur le même noyau (stade 16) ; elle semble autonome un quart d'heure plus tard (stade 17). Au bout de quinze autres minutes, une troisième cellule 17, est ébauchée, encore dans la région de N ; il est très probable qu'elle est devenue libre peu après le stade 23. Voici donc une série de trois cellules du type histiocyte issues, en cinq heures environ, du même noyau et de la même région cytoplasmique d'une cellule vitelline épithéliale. L'une d'elles, 16, a été créée très rapidement, en un peu moins de trente minutes.

Une autre série de cellules histiocytaïres est engendrée par V'. Le noyau de la cellule 1' est bien apparent (stade 10, à 9 heures), alors que moins de trente minutes avant 1' n'était qu'un lobe en développement sur le noyau N' ; celui-ci, une heure trente plus tard, contribue à former une deuxième cellule. De plus, une troisième, 2', est née en même temps que 1', mais dans la région d'un deuxième noyau de V' ; ce dernier, n_2 , de petite taille, a été directement émis la veille par N'.

Nous ajouterons, enfin, qu'il est possible d'observer, grâce à la coloration vitale, que la région centrale d'un lobe en développement d'où naîtra une cellule histiocytaire, est reliée au plasmosome, support principal de la chromatine du noyau-souche.

Tout semble se passer comme si chaque cellule du type histiocyte résultait d'une division directe particulière, sur laquelle nous reviendrons (p. 432 et p. 501).

B. — Les préparations colorées.

Les stades de l'apparition des éléments du type histiocyte à partir des cellules vitellines épithéliales sont, dans l'ensemble, assez nombreux dans les cultures en transformation spontanée, fixées et colorées. Toutefois, ceux qui saisissent le moment exact de la division d'où résulte une cellule du type histiocyte sont moins fréquents. La durée du phénomène paraît relativement brève par rapport aux périodes qui l'annoncent ou lui succèdent ; de plus, la différenciation de l'hématoxyline doit être très soignée, puisque la cellule en développement se projette sur la cellule-mère.

La planche XIV-A représente une cellule vitelline épithéliale d'une culture pure d'entoblaste vitellin en flacon, subissant la transformation en éléments histiocytaires. Cette culture a été fixée et colorée, *in toto*, au dix-neuvième jour. La grande cellule vitelline est pourvue d'un noyau N et d'un deuxième plus petit n, accolé à N et dont il paraît résulter. N possède deux plasmosomes dont l'un, arrondi, émet une petite expansion bourgeonnante. L'endoplasme de l'élément considéré est réduit à un réseau abondamment chargé de vitellus en digestion et de graisses, mais ces corps ont été dissous par les réactifs. Au centre du réseau endoplasmique, on aperçoit le résidu basophile de quelques enclaves de vitellus V. Plusieurs cellules histiocytaires, formées récemment par la cellule vitelline, sont disposées autour d'elle en une sorte de couronne. Les unes, arrondies ou allongées, reposent sur l'endoplasme maternel, dont on distingue le réseau, par transparence, à travers leur cytoplasme. D'autres tendent à quitter définitivement la cellule-souche à laquelle elles adhèrent encore par un prolongement de cytoplasme étiré où l'on peut observer quelques grains de vitellus V. La plupart des éléments sont libres alentour ; ils sont plus ou moins allongés et bordés d'un voile hyaloplasmique, qui, à l'état vivant, était une membrane ondulante. Ces cellules, surtout celles qui paraissent le plus récemment créées, possèdent un noyau dont la chromatine est dispersée sous forme de plusieurs granules. Quelques-unes, arrondies, basophiles, parfois groupées deux à deux, sont probablement en période de caryocinèse. Dans cette préparation, on ne voit pas de stades montrant des cellules histiocytaires en train d'être formées.

Pour observer de tels stades, il convient de passer en goutte pendant les cellules en transformation dans les flacons : les

cultures sont fixées au moment choisi. Quelques aspects de la création des cellules histiocytaires sont groupés planche XIV-B.

On voit les gros noyaux N des cellules vitellines mères, pourvus d'un plasmosome P sur lequel est amassée la majeure partie de la chromatine ; leur cytoplasme avec les enclaves n'a pas été représenté. Des cellules du type histiocyte, avec leur noyau *nH* et leur cytoplasme *cH*, sont en formation sur ces gros noyaux. Aux stades 1, 2, 3, 4 et 8, une, ou quelquefois deux cellules histiocytaires H (stade 2) ont déjà pris naissance et sont en train d'émigrer. Elles ont, au début, un noyau souvent irrégulier, à pourtour peu accentué. Ensuite, le noyau devient ovale avec une membrane très basophile qui paraît assez épaisse ; la substance chromatique, suivant les stades, est d'abord dispersée en granules inégaux, puis condensée en un, ou quelques amas centraux parmi des granules. Le cytoplasme allongé et ramifié peut contenir quelques grains de vitellus basophiles (1, 2, 4, 8). Un voile hyaloplasmique se développe à la périphérie de chaque cellule ; à l'état vivant, celui-ci est animé d'un mouvement ondulatoire.

Au stade 1, le plasmosome arrondi P, recouvert de chromatine, émet trois petites expansions. Stade 2, P, irrégulièrement globuleux et complètement basophile, est pourvu de deux expansions légèrement basophiles, une en haut et à gauche, l'autre près de l'angle inférieur droit. Du troisième au septième stade, nous observons des images qui traduisent, d'une part, la formation du petit noyau de la cellule histiocytaire, par division directe d'une faible partie du grand noyau de la cellule vitelline mère, dans la région du plasmosome et, d'autre part, celle du cytoplasme de la cellule-fille, par division d'un lobe cytoplasmique de la cellule-mère au-dessus de son noyau N. Stade 3, on distingue un petit noyau *nH*, basophile, arrondi, qui vient de s'individualiser à partir du plasmosome P, complètement basophile, mais à nouveau légèrement allongé. Deux zones légèrement basophiles limitent en partie un lobe cytoplasmique *cH*, au-dessus de la région centrale de N. Stade 4, un petit noyau coïncide vraisemblablement avec le plasmosome arrondi et très basophile du noyau de la cellule vitelline, sur lequel il se projette. On distingue autour de la région de ce plasmosome, et vraisemblablement de celle du petit noyau, un lobe cytoplasmique ténu, *ch*.

Au stade 5, à la surface de la cellule-mère, est né un jeune élément qui est encore en grande partie sur le noyau N, où le plasmosome P tend à reprendre sa structure habituelle allongée avec des grains périphériques de chromatine. La jeune cellule est constituée par un noyau *nH* à granules de chromatine dispersés et par un cytoplasme très mince, de forme générale ovale, *cH*. On remarquera que la moitié antérieure de ce cytoplasme, déjà hors de la zone du noyau N, est homogène et nettement

autonome ; par contre, la moitié postérieure a un contour très faiblement indiqué, qui se distingue difficilement du cytoplasme-souche recouvrant N. Aux stades 6 et 7, un élément néoformé est encore sur N. Stade 6, le noyau *nH* de la jeune cellule paraît assez étalé ; il est irrégulièrement arrondi et lobulé, contient quelques grains inégaux de chromatine et se projette sur le plasmosome P, ayant repris l'aspect très allongé. Le cytoplasme *cH* de la cellule-fille est très mince, sa limite par endroits peu visible. Au stade 7, *nH* est ovale avec une membrane basophile assez épaisse et quelques grains de chromatine près de la membrane ou alignés selon son grand axe ; *nH* se projette sur la région centrale de N, dont le plasmosome P est encore globuleux. Le cytoplasme *cH* est homogène, assez basophile, déjà ramifié. D'autres stades peuvent être observés. Parfois, le noyau de la cellule maternelle est fortement amiboïde ; il en est ainsi, au stade 8, du noyau N pourvu de trois petits plasmosomes ; le cytoplasme forme une série de plis sur ce noyau. Deux éléments histiocytaires semblent pouvoir naître simultanément dans les régions des deux moitiés d'un même noyau d'une cellule vitelline (stades non figurés) ; les cellules émigrent ensuite chacune dans des sens opposés.

C. — *Résumé du mode de formation et interprétation.*

Les faits que nous avons observés, d'une façon prolongée, sur le matériel vivant, puis sur le matériel fixé et coloré, viennent de nous prouver que : *une grande cellule vitelline épithéliale peut donner naissance directement, sans qu'il apparaisse de caryocinèse, à de nombreuses cellules du type histiocyte.* De multiples recherches, dont quelques-unes seulement ont été exposées ici, indiquent que cette production d'éléments transformés se poursuit avec une abondance notable jusqu'à ce que la cellule souche ait distribué toute sa substance aux cellules-filles et qu'il ne persiste rien d'elle-même, à son état antérieur.

Cette formation de cellules du type histiocyte n'obéit pas à un rythme défini. Les éléments sont émis à des intervalles différents ; parfois, le processus est interrompu pendant quelques heures (quatre au moins). Au cours de cette pause, les phénomènes habituels de la multiplication des cellules vitellines épithéliales, tels que nous les avons étudiés dans la première partie de ce travail, peuvent être suivis : séparation, dans l'endoplasme, de petits noyaux à partir des gros et plas-

modiérèse ; puis, la création des cellules-filles transformées reprend en série. Par exemple, dans le cas d'une expérience qui évolue au ralenti, trois éléments histiocytaïres naissent, l'un après l'autre, en cinq heures environ, à partir du même gros noyau et de la même région cytoplasmique d'une cellule vitelline-souche ; une de ces cellules histiocytaïres est achevée en moins de trente minutes. Les éléments néoformés émigrent et acquièrent leurs caractères définitifs assez rapidement ; parfois, ils restent globuleux quelques heures à la place où ils ont pris origine. Lorsque la cellule-mère a plusieurs noyaux, comme il arrive fréquemment, les cellules du type histiocyte peuvent naître, d'une façon simultanée, à partir de plusieurs noyaux, même d'un petit résultant d'un gros depuis peu.

La transformation totale d'une cellule vitelline en cellules histiocytaïres nombreuses s'effectue pendant une durée variable qui dépend des conditions techniques, mais aussi des cellules elles-mêmes : un peu plus d'un jour (Pl. XI, 1 à 6), ou bien (Pl. XII et XIII) environ deux jours (A et D), cinq jours (B), plus de cinq (C), etc...

Chaque élément du type histiocyte résulte de la division directe d'une faible partie du noyau, puis du cytoplasme de la cellule vitelline mère ; ce procès s'effectue, en général, sur la face tournée vers la profondeur du coagulum. Le plasmosome joue un rôle important lors de la division nucléaire ; habituellement allongé et supportant des grains séparés de chromatine à sa périphérie, il devient globuleux (ou seulement à une des extrémités) et uniformément basophile. Il fait preuve d'amiboïsme et émet de courtes expansions basophiles. Un lobe de petite taille, étroitement en rapport avec le plasmosome, se dessine sur le noyau. Il arrive qu'on ait la chance d'observer, grâce à la coloration vitale, que la région centrale de ce lobe est reliée au plasmosome. A l'état vivant, le lobule en développement varie de forme, semble parfois disparaître, puis renaître. Lorsqu'il a déjà acquis une taille suffisante, son contour est seul visible avec certitude, vu la difficulté de l'observation dans les conditions habituelles [n'oublions pas que ce lobe se projette sur une partie du noyau-souche et

particulièrement sur le plasmosome, ou sur une des extrémités de cet organite (fig. 21, stade 12, n° 15)].

L'examen d'un stade : lobe naissant, sur préparation fixée et colorée (Pl. XIV-B), révèle ce que l'observation directe, à l'état vivant, ne permet pas de distinguer en détail : il y a division d'une partie du noyau-souche ; elle intéresse surtout une portion du plasmosome, support de la chromatine condensée. Ce processus qui, dans le cas des cellules en cultures, se poursuit dans le plan horizontal, à la surface du noyau-souche, aboutit, au-dessus de ce dernier, à la séparation d'un petit noyau arrondi. En même temps, une faible région du cytoplasme de la cellule vitelline s'individualise autour du noyau en formation sur le noyau-souche, sur lequel elle se projette. Il semble donc que le stade vivant : lobe naissant, doive être logiquement interprété comme représentant la hernie mouvante, produite à la fois par le petit noyau en train de se séparer et par l'éminence cytoplasmique qui l'entoure. Cette dernière — tandis que le plasmosome reprend sa forme habituelle — se divise peu après, comme l'établissent les observations à l'état vivant et l'étude des préparations colorées.

Une jeune cellule est donc née, beaucoup plus petite que la cellule-mère et transformée par rapport à celle-ci : il s'agit d'un élément histiocytaire — nous en étudierons plus loin les propriétés physiologiques — qui émigre et commence une vie nouvelle. Ce mode de multiplication est d'une fécondité remarquable.

Les cellules du type histiocyte néoformées contiennent, en général, des enclaves de vitellus en digestion, passant du cytoplasme de la cellule-mère dans le lobe en division. Si, dans certains cas, ce dentoplasme est abondant, il n'est représenté, dans d'autres, que par quelques grains ou quelques petites enclaves, surtout lorsque la cellule-souche a déjà émis beaucoup d'éléments histiocytaires.

CHAPITRE II

L'évolution des cultures de cellules vitellines se transformant en cellules du type histiocyte.

1. — LES CELLULES VITELLINES.

La transformation en cellules du type histiocyte, lorsqu'elle apparaît dans les cultures d'entoblaste vitellin en flacon, est d'abord localisée à quelques plages cellulaires, mais le phénomène gagnant de proche en proche, les zones d'éléments néoformés s'étendent à des parties importantes de l'épithélium qui, cependant, ne se transforme jamais tout entier. Les cellules vitellines non modifiées commencent à dégénérer ; on observe, parfois, dans l'endoplasme rempli de vitellus digéré, que leurs noyaux se multiplient très abondamment par amitoses plus ou moins égales ; il n'est pas rare de compter une douzaine de noyaux par cellule. Cette pullulation nucléaire est probablement en rapport avec un certain degré d'asphyxie. Dans la suite, les travées du réseau épithélial régressent de plus en plus ; les éléments deviennent lacuneux, s'arrondissent, se détachent et dégénèrent complètement dans la partie liquide de la culture.

2. — LES CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE.

Dans le milieu même où les cellules épithéliales non transformées dégénèrent, les éléments ayant acquis le type histiocyte se multiplient très abondamment par caryocinèse. Ils constituent des zones denses, sous l'aspect de nappes plus ou moins circulaires, comme autant de petites colonies qui

s'accroissent assez rapidement. Les cellules nouvelles prennent la forme arrondie, à membrane ondulante, ou s'allongent ; mais elles envahissent aussi les régions non transformées, s'insinuent parmi les cellules épithéliales, s'y accolent, devenant extrêmement allongées ou ramifiées. Dans les petites étendues de protéolyse de l'épithélium, les éléments histiocytares se multiplient très abondamment.

A. — Les îlots isogéniques.

Lorsqu'elles commencent à proliférer, les cellules histiocytares faiblement allongées sont réparties très souvent en îlots isogéniques, soit en files (îlots axiaux), soit en groupements plus ou moins sphériques (îlots coronaires). Ces derniers résultent de la disposition des cellules-filles, à la place même de leur formation par une grande cellule vitelline mère, ou représentent des nodules de multiplication secondaire ; ils sont en général nombreux et disséminés dans toute l'épaisseur du coagulum (Pl. XV, 1 et 2). La division des cellules par caryocinèse est fréquente, si bien que les îlots se dissocient, combientôt les intervalles qu'ils laissaient entre eux et font place à une nappe de cellules libres (Pl. XV, 3) qui, au cours de l'évolution des cultures, s'allongent, se ramifient, s'espacent de plus en plus (Pl. XV, 4).

B. — Les agglutinats.

Les cellules vitellines du type histiocyte, aussi bien dans les colonies épithéliales où elles viennent d'apparaître que dans les cultures pures, s'associent fréquemment en agglutinats souvent volumineux. Quand la population cellulaire est dense, les éléments du type histiocyte s'accolent les uns aux autres, constituant de petits agglutinats (Pl. XVI, 3) qui peuvent acquérir ensuite un volume important par l'adjonction d'un grand nombre d'autres cellules. Celles de la périphérie de ces îlots denses conservent, parfois, le type arrondi ou faiblement allongé dans les régions superficielles du coagulum nutritif ; dans les zones profondes, le type allongé. Cette agglutination

ne traduit pas seulement un phénomène de dégénérescence, elle représente, plutôt, une sorte d'état associé (LISON) qui ne dépend pas uniquement de la densité locale de la population, car des agglutinats apparaissent dans des zones où les cellules laissent entre elles des espaces très suffisants. Il arrive, en effet, au cours de l'évolution des cultures entretenues, que les cellules histiocytaires se détachent progressivement des agglutinats, puis reprennent, en très bon état, leur vie libre antérieure.

3. — LES CAS DE TRANSFORMATION CONCOMITANTE EN CELLULES DES TYPES FIBROCYTE ET HISTIOCYTE.

Il arrive que des cellules vitellines, en cultures pures, subissent, en fin de croissance, la transformation en éléments du type histiocyte, tandis que d'autres, dans le même flacon, acquièrent progressivement les caractères des fibrocytes, selon le processus que nous avons étudié. La transformation concomitante en ces deux sortes d'éléments a été observée plusieurs fois. Il est possible de les séparer par isolement physiologique, car leurs besoins nutritifs sont différents. Suivant que l'on traite les colonies dans lesquelles les deux types cellulaires ont apparu, soit par de l'extrait d'embryon, soit par du plasma hépariné, on provoque la multiplication prédominante des cellules des types fibrocyte ou histiocyte ; on les sépare ensuite en culture pure.

CHAPITRE III

Les cultures de cellules du type histiocyte, issues des cellules vitellines.

Les éléments histiocytaires, provenant des cellules vitellines, sont isolés des zones en transformation dans les flacons, par repiquage dans une goutte pendante de plasma coagulé par des traces d'extrait d'embryon dilué. Il y a souvent avantage à procéder de la façon suivante, surtout lorsqu'il s'agit d'une variation abondante : on laisse les cellules se multiplier pendant plusieurs jours, sans intervenir, ou en recouvrant la culture, après lavage, d'une couche mince de plasma et de liquide de TYRODE, coagulée par deux gouttes d'extrait dilué (Voir p. 225).

Tandis que la dégénérescence de l'épithélium est rapide, la multiplication des cellules du type histiocyte est intense ; elles viennent adhérer au fond du flacon dans les petites zones de liquéfaction. Il suffit alors de détacher le coagulum avec une spatule : ce qui reste de l'épithélium est éliminé facilement. Des cellules histiocytaires, souvent très nombreuses, restent étalées sur le fond du flacon ; en les lavant et les recouvrant d'un coagulum nutritif nouveau, on obtient ainsi, en quelques jours, une culture abondante. De telles opérations sont grandement facilitées par l'usage de mon flacon à lamelle amovible ; les disques de mica, auxquels adhèrent les cellules, sont déposés dans un autre flacon, puis recouverts d'un coagulum. Les colonies sont nourries avec du plasma hépariné, renouvelé tous les deux ou trois jours. Les cellules prolifèrent de telle sorte qu'elles recouvrent bientôt la majeure partie de leur support sur lequel elles s'étalent, puis se répartissent ensuite dans l'épaisseur du substratum. Elles fournissent, alors, de nombreuses sub-cultures pures en goutte pendante d'éléments du type histiocyte.

1. — DESCRIPTION DES COLONIES.

Quand les cellules vitellines du type histiocyte collées sur le fond d'un flacon commencent à se multiplier, elles constituent, à la face inférieure du coagulum, de petites colonies à contour général circulaire. Les cellules sont espacées, faiblement allongées, avec un voile hyaloplasmique ondulant à leurs extrémités. Dans la suite, elles deviennent très nombreuses et se rapprochent ; on peut observer des plages de macrophages arrondis, étalés, assez régulièrement répartis, formant une sorte de dallage et, ailleurs, des zones de multiplication sous forme de groupements isogéniques coronaires ou axiaux. Quand les éléments se sont multipliés dans l'épaisseur du milieu nutritif, celui-ci est prélevé en vue de repiquages, tandis que d'autres restent encore adhérents au flacon et recommencent à se multiplier, s'ils sont recouverts d'un coagulum nouveau. L'opération peut être répétée plusieurs fois.

Lorsqu'on passe en goutte pendant les colonies épithéliales en train de subir, dans les flacons, la variation en cellules histiocytaires, on peut obtenir, selon les stades, soit des cultures contenant encore des cellules vitellines créant des éléments histiocytaires, soit, seulement, cette dernière catégorie. La planche XVI,1 représente une colonie de cellules vitellines du type histiocyte au premier passage, à partir d'une culture épithéliale pure en flacon où la transformation était très avancée. L'explant, sur lequel on remarque quelques agglutinats de cellules histiocytaires, a produit une auréole importante de croissance dans le coagulum ; cette dernière est arrondie et constituée par des cellules allongées, plus ou moins ramifiées, assez éloignées les unes des autres et réparties dans toute l'épaisseur du substratum nutritif. De semblables cultures sont obtenues, au premier passage, dans une goutte de plasma et une d'extrait embryonnaire dilué à 30 p. 100, par exemple ; mais il est nécessaire, dans la suite, d'ensemencer les fragments dans une goutte de plasma, coagulé seulement par des traces d'extrait dilué. Dans ces cultures secondaires,

il peut toujours y avoir groupement des cellules en îlots isogéniques coronaires ou axiaux, ou en rosettes. De plus, dans l'auréole de croissance, que les éléments soient espacés ou rapprochés, il y a coexistence de cellules arrondies, entourées d'une large membrane ondulante, de cellules allongées, ou d'autres, très allongées et très ramifiées (Pl. XVI, 2, 3, 4).

2. — ÉTUDE CYTOLOGIQUE.

Nous analyserons l'aspect et la structure des cellules vitellines du type histiocyte en multiplication active. Nous ajouterons, parfois, quelques compléments cytologiques à l'étude de la formation de celles-ci.

A. — *L'état vivant.*

Les cellules vitellines à l'état histiocytaire prennent deux attitudes extrêmes : celle du macrophage arrondi et de la cellule très allongée ou très ramifiée. Une forme intermédiaire principale est celle du macrophage faiblement allongé ou ramifié.

Le macrophage est une cellule pourvue d'un noyau rond ou ovale, d'un endoplasme dense et d'un exoplasme qui s'étale autour de la cellule en une large membrane hyaloplasmique ondulante. Celle-ci, bien visible à l'état vivant, surtout à cause de ses replis, est en perpétuel mouvement ; elle provoque, avec un certain amiboïsme du cytoplasme, la mobilité du macrophage. Cette membrane ondulante est caractéristique ; elle ne peut être confondue avec l'hyaloplasme étalé des cellules vitellines plus ou moins modifiées, comme on en rencontre, par exemple, dans les zones de liquéfaction des colonies. Les caractères de forme et de motilité de la membrane ondulante ne prêtent pas à confusion.

Le macrophage émet un prolongement cytoplasmique assez court (Pl. XV, 2, 3 et Pl. XVI, 3), s'allonge ou se ramifie faiblement ; le voile hyaloplasmique ondulant persiste autour du corps cellulaire ou seulement à ses extrémités (Pl. XIV-A, XV, 2 et 3 et XVI, 3).

Enfin, la forme précitée devient très allongée ou très ramifiée (Pl. XVI, 2 et 4). Un voile hyaloplasmique ondulant existe aux extrémités des prolongements de chaque cellule, lesquels sont soumis à des variations continues de forme et de disposition.

Les trois aspects décrits sont réversibles. Ils peuvent exister simultanément dans les mêmes cultures, où l'on distingue des plages et des cordons de macrophages ronds à membrane ondulante, au voisinage, ou faisant partie de nappes de cellules allongées ou très ramifiées. Lorsque les éléments du type histiocyte, se formant dans une culture d'entoblaste vitellin, envahissent les zones non remaniées de l'épithélium, ils deviennent toujours très allongés ou très ramifiés. Leur aspect est celui d'histiocytes au sein d'un parenchyme. Les cellules vitellines transformées naissent aussi bien rondes qu'allongées : dans les cultures en milieu liquide, principalement, elles apparaissent sous forme de macrophages arrondis qui bientôt s'étalent ; en milieu solide, elles sont le plus souvent engendrées à l'état légèrement allongé.

L'observation directe et, d'une façon plus immédiatement synthétique, l'enregistrement prolongé au cinématographe, montrent que les éléments histiocytaires, récemment émis par une grande cellule vitelline, ont fréquemment, surtout lorsqu'ils sont très pauvres en vitellus, l'aspect d'un voile clair et mince, en perpétuel mouvement. On voit de multiples éléments évoluer non loin de la périphérie de la cellule-mère, comme des abeilles tourbillonnant autour d'une ruche. Peu après leur libération, ils entrent pour la première fois en mitose, comme cela est démontré à plusieurs reprises sur notre film cinématographique. Les cellules néoformées sont souvent de taille inégale, mais, dans la suite, au cours de leur multiplication caryocinétique fréquente, celle-ci devient assez uniforme.

B. — La structure cytologique.

Sur les préparations fixées et colorées par des techniques diverses, on retrouve les cellules vitellines histiocytaires soit arrondies et mesurant 15 à 20 μ , soit plus ou moins allongées et ramifiées.

Les macrophages arrondis ont un endoplasme fortement chromophile, souvent même basophile, dont la partie centrale est particulièrement dense, légèrement granuleuse ; elle retient, d'une part, l'hématoxyline

au fer et légèrement, d'autre part, le soudan III après insolubilisation des lipines par le bichromate de potassium. C'est dans cette région que s'individualise, comme nous le verrons (Pl. XXIX, fig. 1), une zone de GOLGI et qu'apparaît la centrosphère. A la périphérie de toute cette zone, la coloration vitale au rouge neutre (Pl. XXV, fig. 14) met en évidence de nombreuses vacuoles arrondies, colorées en rouge vif, non polarisées. Celles-ci sont beaucoup plus nombreuses qu'elles ne l'étaient chez les cellules vitellines épithéliales ou devenues fibrocytes : dans ce dernier cas, elles sont plus fines et polarisées. L'endoplasme renferme encore des chondriocontes et quelques mitochondries (Pl. XXIX, fig. 1). Les premiers, qui étaient très abondants, longs et grêles chez les cellules vitellines, peuvent l'être encore assez, mais toujours grêles et moins longs ; ils ont une disposition générale radiaire, à partir de la zone endoplasmique centrale où ils sont beaucoup plus rares. L'exoplasme est développé en une membrane ondulante hyaloplasmique, soit complètement étalée autour de la cellule, particulièrement dans les cultures en milieu liquide, soit plus ou moins plissée, surtout à ses bords. Les plis de la membrane ondulante sont chromophiles et retiennent en général les colorants basiques, comme l'hématoxyline, après insolubilisation des lipines par action prolongée du bichromate de potassium. On ne trouve pas de chondriocontes et jamais de vacuoles dans la membrane ondulante.

Le noyau des macrophages est arrondi (souvent de 6 à 7 μ de diamètre) ou ovale, unique et plus ou moins excentré, à cause de la présence de la zone endoplasmique centrale. La membrane nucléaire est bien colorée par l'hématoxyline et souvent assez épaisse. Le fond du noyau est éosinophile, mais il est aussi parfois basophile. Alors que la chromatine de la cellule vitelline était répartie sous forme de quelques granules à la périphérie d'un plasmosome acidophile, celle du macrophage vitellin est d'abord très dispersée dans tout le noyau, au moment de la formation, sous l'aspect de granules assez petits, irréguliers et nombreux. Dans la suite, cette chromatine devient plus condensée, mais le plasmosome acidophile ne réapparaît pas nettement. Une ou quelques masses chromatiques, fortement colorées en noir par l'hématoxyline, arrondies, allongées ou irrégulières, se trouvent dans la partie centrale du noyau. Des grains plus petits sont disséminés dans le reste de cet organite et souvent disposés contre la membrane nucléaire.

Lorsque le macrophage vitellin prend l'un des aspects d'une cellule histiocyttaire, il garde les mêmes caractères généraux ; il se déforme considérablement, toutefois, par étirement et ramification du cytoplasme et par allongement du noyau, qui peut devenir, par endroits, plus ou moins irrégulier ou resserré.

Les préparations colorées montrent fréquemment les stades de la caryocinèse aussi bien chez les macrophages ronds que chez les cellules allongées et ramifiées.

3. — LES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES.

Lorsqu'on s'adresse à des cellules vitellines du type histiocyte enfouies assez profondément, l'épreuve des capacités d'accumulation et de phagocytose n'est pas toujours concluante, par suite de l'interposition du coagulum nutritif qui empêche la pénétration des substances ajoutées. La technique optima pour effectuer de tels essais est d'utiliser des cultures en milieu liquide, ou, si l'on a affaire à des cellules histiocytaires collées au fond d'un flacon, d'enlever, avant les expériences, le coagulum qui les recouvre.

Les cellules vitellines à l'état histiocytaire accumulent d'une façon intense, mais surtout très rapide, les colorants vitaux basiques. Le stade de la coloration vitale est très vite dépassé ; de nouvelles vacuoles se créent et, finalement, tout l'endoplasme est lui-même teinté. Les cellules vitellines du type histiocyte accumulent, de même, un colorant vital acide comme le trypano-bleu. Certaines d'entre elles deviennent complètement et intensément bleues, s'arrondissent et dégènerent. Les cellules font preuve, aussi, d'un pouvoir colloïdopexique pour le carmin lithiné de ORTH, dilué dans le liquide de TYRODE.

Leurs propriétés phagocytaires sont intenses : elles accumulent très nettement par ultra-phagocytose, sous forme de grains noirs séparés qui s'accroissent, l'encre de Chine diluée ; elles captent normalement, dans les cultures, diverses particules assez grosses ; elles phagocytent d'autres cellules, comme des érythrocytes de la Poule. Une heure après avoir été déposés dans les cultures, ceux-ci, en suspension dans le liquide de TYRODE, sont accolés à la périphérie des macrophages ou y pénètrent déjà partiellement ; en trois heures, de très nombreux érythrocytes sont phagocytés totalement. Certains macrophages englobent les cellules jusqu'à être, en quelque sorte, masqués par elles ; on compte dix et même jusqu'à quinze érythrocytes dans un seul macrophage vitellin. La phagocytose est exercée encore sur des bactéries, des cocci par exemple, même par les cellules vitellines histiocytaires devenues ramifiées ; ces microbes s'observent dans

l'endoplasme, soit à l'état isolé, soit par petits groupes agglutinés.

Enfin, des grains de vitellus déposés sur les macrophages vitellins sont aussi phagocytés ; les cellules persistent à l'état de macrophages arrondis ou ovales ; elles ne récupèrent pas la structure épithéliale.

Les cellules vitellines du type histiocyte, au moment de leur formation, supportent la présence de l'extrait embryonnaire dilué, par exemple à 30 p. 100 ; mais elles deviennent rapidement moins vivaces dans les cultures secondaires, si l'on persiste à ajouter ce produit. Leur croissance, en effet, est assurée suffisamment par des traces d'extrait dilué ; cet apport peut même être supprimé, car le plasma hépariné entretient à lui seul leur multiplication fréquente. Par sa transformation en élément histiocyttaire, la cellule vitelline acquiert donc la propriété — dont elle ne bénéficiait pas auparavant d'une façon durable — de se nourrir seulement des protéines du sérum et de se passer des facteurs de croissance contenus dans l'extrait d'embryon.

La concentration de l'extrait n'a pas une influence directe sur la forme des cellules vitellines du type histiocyte ; elles sont rondes ou allongées ou très ramifiées dans une même culture, qu'on y ait ajouté des traces d'extrait à 30 p. 100 ou même une quantité égale à celle du plasma. Les cultures en sérum pur donnent, en général, de magnifiques macrophages ronds étalés sur le verre, mais on y rencontre aussi quelques cellules allongées. Inversement, une culture faite dans une goutte pendante de plasma et une d'extrait à 30 p. 100 se développe régulièrement et rapidement, sous l'aspect d'éléments très allongés et très ramifiés (Pl. XVI, 1 et 2). Enfin, ces différentes sortes de cellules se retrouvent concurremment dans une même colonie, en goutte pendante ou en flacon. La forme adoptée par la cellule vitelline devenue histiocyttaire dépend surtout, semble-t-il, de facteurs cellulaires propres (Cf., 4^e partie, p. 532).

Lorsqu'on colore vitalement des cellules vitellines en train d'engendrer des éléments histiocytaires, on remarque que ces derniers accumulent seuls intensément le colorant, ce qui ne les empêche pas de se multiplier dans la suite. Les cellules-mères ne réduisent pas, alors, le rouge neutre, le vert Janus et le bleu de méthylène, mais en partie le bleu brillant de cré-

syl. Celui-ci, dilué dans le liquide de TYRODE, est déposé, de cinq minutes à quelques heures, sur les cultures en transformation qui sont ensuite lavées et observées. Les enclaves de vitellus sont colorées en violet rougeâtre ou rouge saumon. Le cytoplasme réduit plus ou moins le bleu brillant de crésyl, lorsqu'il y a formation d'éléments histiocytaires ; les cellules vitellines épithéliales qui ne se transforment pas ne le décolorent pas, ou seulement dans une petite zone entourant le noyau.

Les cellules vitellines sont le plus réductrices dans les régions où existent des stades initiaux de la transformation en éléments du type histiocyte. Ailleurs, lorsqu'elles ont émis déjà de nombreuses cellules transformées, elles ont, dans l'ensemble, un cytoplasme teinté ; cependant, il en est, parmi elles, qui réduisent encore complètement le bleu brillant de crésyl. Le cytoplasme des cellules vitellines en transformation réduit donc ce colorant à des degrés divers, parfois complètement, ce qui correspond à un rH_2 de 15,1.

La partie la plus réductrice du cytoplasme est périnucléaire. On reconnaît souvent, d'après sa situation, qu'elle correspond à la zone de GOLGI, même si des variations de polarité surviennent. Dans des cellules binucléées, par exemple, elle est située entre les deux noyaux qui, par contre, sont quelquefois encerclés par un mince halo bleu. Les noyaux des cellules vitellines en transformation sont plus ou moins teintés ; le plasmosome l'est en général beaucoup, le fond du noyau restant plus clair, quoique, cependant, plus foncé que le cytoplasme du même élément. Le noyau, pendant la transformation, semble moins réducteur que le cytoplasme et surtout que la zone de GOLGI.

Les cellules histiocytaires naissant sous l'aspect d'un lobe faisant hernie au-dessus du noyau-souche n'ont pas d'action sur le colorant qu'elles ont accumulé, alors que le cytoplasme de la cellule-mère peut, au même moment, l'avoir réduit complètement.

• Lors de l'individualisation des éléments histiocytaires, le cytoplasme des cellules vitellines mères devient donc plus réducteur, surtout au niveau de la zone de GOLGI ; les cellules en for-

mation n'ont pas ce pouvoir. C'est au moment de leur apparition que les cellules néoformées acquièrent les propriétés physiologiques qui les caractérisent comme étant devenues du type histiocyte.

CHAPITRE IV

La cellule vitelline transformée en cellule du type histiocyte conserve sa spécificité de sécrétion.

Nous avons établi que les cellules vitellines en multiplication ralentie ont la propriété spécifique, même si elles ont acquis progressivement les caractères des fibrocytes, de sécréter, sous forme de grains ou de grosses enclaves, un produit comparable au vitellus. Les éléments histiocytaires provenant des cellules vitellines par voie de multiplication directe particulière manifestent-ils toujours cette même propriété ? L'observation s'offrait donc, pour la première fois, de la transformation en cellules du type histiocyte d'une cellule glandulaire dont la sécrétion figurée était identifiable.

Au moment de leur formation à partir des cellules vitellines épithéliales, les cellules du type histiocyte contiennent un peu de vitellus, mais elles le digèrent bien vite. Lorsqu'elles prolifèrent, elles sont dépourvues de ce corps et ne renferment dans leur endoplasme que quelques boules de graisses. Les cultures secondaires se multiplient très activement en présence de plasma hépariné ou de sérum. On ne peut donc pas provoquer un ralentissement de la croissance pour mettre les cellules dans des conditions favorables à l'apparition de leurs propriétés élaboratrices, puisqu'on ne se sert pas d'extrait d'embryon. Laissons donc simplement évoluer les colonies quand la multiplication des éléments histiocytaires se ralentit d'elle-même ; nous constatons une sécrétion tout à fait comparable à celle suivie chez les fibrocytes vitellins.

Les cellules se chargent toujours de grains jaune doré qui grossissent, deviennent de plus en plus nombreux et occupent une grande portion de l'endoplasme. Lorsqu'elles émettent un prolongement à leur partie postérieure, on remarque que les grains s'y accumulent ; une membrane ondulante persiste autour de la région antérieure qui entraîne tout l'ensemble. L'observation à l'état vivant et l'enregistrement cinématographique montrent que les cellules où les sphérules de sécrétion sont nombreuses, gardent la forme arrondie à membrane ondulante aussi bien que l'aspect allongé. Au cours des mouvements incessants des cellules, les grains sont vivement déplacés dans l'endoplasme et même rejetés. Quantité de ceux-ci, souvent en amas ou en traînées, sont parfois libres dans les cultures.

Après application d'une technique générale, comme la fixation au liquide de NAVACHINE, suivie de la coloration à l'hématoxyline ferrique de REGAUD, les cellules du type histiocyte en multiplication ralentie, surtout dans les flacons, sont pourvues, autour de leur zone endoplasmique centrale, de grains de sécrétion petits, arrondis, basophiles. Quelques-uns, plus gros, constituent, par coalescence, des enclaves souvent assez volumineuses, dont le résidu basophile résiste à l'action des réactifs après dissolution de la fraction lipidique. Grains et enclaves peuvent être digérés dans la cellule qui les a formés.

La planche XXIX, figure 1, représente un macrophage vitellin étalé, au début de la sécrétion. Le noyau arrondi, légèrement ovale, est un peu excentré ; il contient une petite masse de chromatine et quelques granulations disséminées. La région endoplasmique centrale est occupée par une zone de GOLGI dense, granuleuse, en rapport avec un tiers environ du périmètre du noyau. Cette zone est à la fois basophile et chargée de lipines diffuses ; elle retient le soudan III après postchromisation. Les jeunes grains de sécrétion sont à sa périphérie ; les uns principalement basophiles et de petite taille ; d'autres, plus volumineux, encore basophiles, prennent aussi, d'une façon peu intense, la coloration des lipines. Enfin, cette dernière est prédominante sur les grains éloignés de la zone de GOLGI. Entre eux, sont des chondriocentes à disposition générale rayonnée et quelques mitochondries. On distingue des filaments peu nombreux dans la zone de GOLGI, à sa périphérie, ou même près de sa

région centrale ; ils affectent des rapports de continuité avec les grains, mais ne présentent jamais d'image de vésiculation. Dans le macrophage vitellin, tout comme dans la cellule vitelline à l'état épithélial et surtout à l'état de fibrocyte, il y a donc sécrétion de grains d'abord basophiles, devenant ensuite lipiniques. Ils apparaissent à la périphérie de la zone de GOLGI, précisément dans la région où la coloration vitale au rouge neutre met en évidence les vacuoles normales de la cellule.

Lorsque les grains de sécrétion sont achevés (Pl. XXIX, fig. 2), les lipines de la zone de GOLGI sont plus apparentes. Autour d'elle, se trouve une série de sphérules, de taille en 'général peu différente et qui remplissent une grande partie de l'endoplasme. Le chondriome est représenté par quelques chondriocontes, moins nombreux qu'au stade du début de la sécrétion, et par des mitochondries. Les grains basophiles sont plus rares, mais des boules de graisses assez abondantes sont visibles entre les grains de sécrétion. A ce stade, après postchromisation, ils retiennent très énergiquement le soudan III, en rouge brique foncé, principalement sous forme d'un halo périphérique. C'est alors que les macrophages vitellins apparaissent, à l'état vivant, chargés de grains jaune doré qui peuvent fusionner en enclaves ou même être rejetés.

Le produit de sécrétion est digéré dans les cellules : le rouge neutre ne colore pas vitalement les granules qui viennent d'être formés, mais seulement ceux qui commencent à être digérés. Diverses images traduisent les stades de cette digestion : des grains (Pl. XXV, fig. 14) prennent uniformément le rouge neutre, d'autres sont à peine colorés ; des enclaves sont légèrement teintées et contiennent, de plus, des granules rouges ; d'assez grosses sphères ont leur région centrale rouge, tandis que leur périphérie est réfringente et reste incolore. Finalement, de tels grains sont réduits complètement à l'état de glycérides.

On peut identifier, dans le complexe jaune brun qui constitue ces grains, les substances principales que nous avons déjà caractérisées dans le produit de sécrétion de la cellule vitelline (p. 287 et p. 371). Ceux-ci sont chargés de lipines, comme le révèle la coloration au soudan III après postchromisation. Sous l'action de l'acide osmique, les plus petits deviennent à peine bistres ; d'autres sont bistres au centre et plus foncés à la périphérie ; les plus gros peuvent être bistres avec une couronne noire ; les grains digérés sont noirs ; après action de l'alcool à 70°, tous noircissent nettement. Dans ces lipines, la réaction au molybdate d'ammoniaque-acide sulfurique met en évidence, en lilas passant au bleu verdâtre, le phosphore des lécithines ; elle indique, peut-être, en rouge brun, la présence du cholestérol. La réaction de LIEBERMANN-ROMIEU, à l'acide sulfurique-anhydride acétique, décèle ce dernier corps. Des acides gras, en faible quantité, sont révélés probablement par une teinte vert jaune, après action de l'acétate de cuivre. Les réactions xanthoprotéique, du biuret et de MILLON, montrent que des protéines existent aussi dans le complexe constituant ces grains. Enfin, du fer y est carac-

térisé par la réaction du bleu de Prusse, d'après MAC CALLUM, et par celle à la 8-hydroxyquinoléine, également après démasquage.

Les cellules vitellines transformées à l'état histiocyttaire conservent leur propriété spécifique de sécréter un produit comparable au vitellus.

CHAPITRE V

Le passage expérimental réversible des cellules vitellines du type histiocyte à l'état de syncytium réticulaire.

Ce passage est provoqué par une intervention expérimentale.

Des cellules du type histiocyte qui proviennent de la transformation spontanée des cellules vitellines épithéliales sont cultivées dans mon flacon à lamelle amovible à laquelle elles adhèrent. Lorsque la culture est suffisamment abondante, le coagulum de plasma qui la recouvre est détaché à l'aide d'une spatule. Des cellules nombreuses restent collées à la lamelle ; elles sont lavées avec du liquide de TYRODE, puis recouvertes par le milieu suivant : plasma, X gouttes ; solution d'héparine à 1 p. 1000, II gouttes ; trypano-bleu à 1 p. 100 dans le liquide de RINGER, II gouttes. Les cultures sont replacées à l'étuve, pour une durée de quelques heures à un jour environ. Le milieu resté liquide est alors enlevé, puis les cultures sont fixées, ou recouvertes d'un coagulum de plasma nouveau et entretenues.

Dans ces conditions, beaucoup de cellules accumulent très intensément le trypano-bleu, se détachent d'elles-mêmes ou bien sont entraînées lors du lavage. Mais d'autres accumulent moins le colorant et subissent une transformation lente et progressive qui les amène peu à peu à l'état de syncytium réticulaire. Elles s'allongent sur la lamelle, se ramifient, se soudent entre elles (Pl. XVII, 1). Dans les zones où les cellules histiocytaires sont restées nombreuses, des réseaux de taille plus ou moins importante se constituent ; ils peuvent avoir un aspect dense (Pl. XVII, 2). A leur périphérie, des éléments ont une extrémité libre, mais, dans les régions centrales, chevau-

chent, formant un feutrage serré. Les préparations fixées et colorées montrent qu'il y a réellement fusion et continuité entre les anastomosés du réseau ; l'aspect est bien celui d'un syncytium réticulaire, dans lequel on ne met pas en évidence de séparations entre les cellules et non celui d'« adhérences réticulaires » (W. R. et M. R. LEWIS), comme on peut l'observer dans diverses cultures. Il ne s'agit pas, non plus, d'un état associé ou de simples agglutinats, d'où les cellules histiocytaires peuvent se libérer. Selon la durée du traitement, la transformation à l'état de réseau s'accompagne d'une dégénérescence plus ou moins accentuée, parfois jusqu'à la disparition des noyaux. Dans des conditions optima d'intervention, le syncytium réticulaire est constitué par des travées cytoplasmiques anastomosées, irrégulières, resserrées ou élargies par endroits, sans membranes ondulantes, parsemées çà et là de noyaux non dégénérés, ronds ou légèrement allongés. Quelques cellules du type histiocyte plus ou moins globuleuses, très chromophiles, à noyau très fortement coloré en noir par l'hématoxyline, s'observent sur la région périphérique de l'amas réticulaire ; elles correspondent à des éléments en partie dégénérés et qui ont accumulé intensément le trypano-bleu, mais sont restés tout de même adhérents à la lamelle du flacon.

Lorsque ces formations sont recouvertes, après lavage minutieux, d'un nouveau coagulum de plasma et de liquide de TYRODE à parties égales, puis nourries avec du plasma hépariné, on constate que cet état réticulaire est compatible non seulement avec la survie des cellules, mais avec leur retour à la vie libre. La planche XVII, 2, 3, 4, montre trois stades de ce passage progressif à l'état libre d'une part des éléments qui se sont disposés en réticulum indivis. Des cellules, dans la région périphérique, tendent à s'individualiser, puis se libèrent peu à peu. Mais la récupération de l'état cellulaire libre est très lente et ne s'effectue qu'en plusieurs jours. La masse du réseau diminue (Pl. XVII, 4), les cellules libérées se déplacent alentour ; la plupart des éléments ont repris une vie autonome, sous forme de macrophages très mobiles ou de cellules histiocytaires allongées, en bon état de vitalité, en

tout point analogues aux éléments qui existaient dans les colonies avant le traitement expérimental.

De plus, dans des cultures secondaires, provenant d'autres dans lesquelles les cellules vitellines épithéliales se sont transformées, soit en éléments histiocytaires ou en fibrocytes, on peut observer que des macrophages ainsi que des cellules histiocytaires ramifiées réapparaissent ultérieurement parmi les fibrocytes vitellins.

Il semble bien aussi que les cellules vitellines devenues histiocytaires puissent être incitées à passer à l'état de fibrocyte, comme cela est du reste connu en ce qui concerne les histiocytes d'origine mésenchymateuse.

Dans quelques essais on a tenté de provoquer la transformation des cellules vitellines du type histiocyte en fibrocytes. Des fragments de cœur d'embryon du Poulet, conservés depuis plus d'un mois à la glacière (ils sont tués et ne donnent plus de cultures dans les expériences de contrôle), sont déposés, dans une mince couche de plasma coagulé, sur des cultures de cellules vitellines histiocytaires en flacon. Dans la suite, les colonies sont nourries avec du plasma hépariné. Les cellules du type histiocyte dessinent une auréole dense autour des fragments de cœur ; elles s'allongent, se groupent, s'enchevêtrent à la manière d'un feutrage ; elles servent par places un voile hyaloplasmique ondulant. Enfin, des tractus d'éléments fusiformes et dépourvus de membrane ondulante se constituent ; les cellules sont minces et restent en général de petite taille. Ces tractus s'enfoncent dans l'épaisseur du coagulum, alors que les cellules qui persistent sous l'aspect histiocytaire typique adhèrent au fond du flacon. A ce moment, les cultures sont nourries, non plus avec du plasma hépariné, mais avec de l'extrait d'embryon à 10 p. 100. L'aspect reste toujours le même, les colonies ressemblant à celles des fibrocytes. Ensuite, la concentration de l'extrait est portée à 20 p. 100, puis à 30 p. 100, mais les colonies, repiquées alors, n'ont plus continué à s'accroître. On présume qu'en poursuivant systématiquement des expériences analogues on puisse arriver à obtenir des souches durables d'éléments fusiformes, provenant de la transformation des cellules vitellines du type histiocyte.

Discussion de la deuxième partie.

Nous avons suivi la formation d'éléments libres à partir des grandes cellules vitellines épithéliales, sans qu'il y ait de stade intermédiaire entre l'une et l'autre catégorie, dans les cultures pures d'entoblaste vitellin. *Ces petites cellules libres sont du type histiocyte, d'après leur structure et celle de leurs colo-*

nies et d'après leurs fonctions : *chromopexie, colloïdopexie, phagocytose, nutrition par les protéines du sérum*. Elles adoptent la forme de macrophages arrondis à membrane ondulante, celle de macrophages faiblement allongés ou ramifiés, enfin la forme d'éléments très allongés et très ramifiés, avec un voile hyaloplasmique localisé en général à l'extrémité des prolongements. Ces aspects sont d'ailleurs réversibles. Les différences de forme, de comportement et de fonction des éléments néoformées et des cellules vitellines épithéliales ont été mentionnées dans la discussion de la première partie (p. 377). Remarquons, principalement, l'apparition de la possibilité d'utiliser uniquement les protéines du sérum et celle de la propriété macrophagique proprement dite : les macrophages vitellins phagocytent rapidement et avec une extraordinaire avidité des érythrocytes nombreux. Cependant, pour RIOCH (1923), les phagocytes mésodermiques et les monocytes peuvent seuls capter les érythrocytes, à l'exclusion des cellules ecto et entodermiques. Les éléments transformés passent, expérimentalement, à l'état de syncytium réticulaire, ce qui est compatible, cependant, avec le retour ultérieur au type histiocytaire libre. Il arrive, dans une même culture pure d'épithélium vitellin, que des cellules se transforment en éléments du type histiocyte, alors que d'autres, dans une région voisine, prennent progressivement les caractères des fibrocytes (1^{re} partie, 2^e section).

Bien que les modifications de structure et de fonction subies par les cellules vitellines, au cours de leur transformation spontanée en éléments histiocytaires, soient profondes, elles conservent leur propriété spécifique, qui est — comme cela a été établi (1^{re} partie) — de sécréter un produit comparable au vitellus.

Les cellules vitellines du type histiocyte résultent cependant, uniquement, d'un processus particulier de multiplication directe, exclusif de la caryocinèse (Cf. *Résumé du mode de formation*, p. 432), au cours duquel elles acquièrent les modifications de structure et les propriétés physiologiques qui, désormais, les caractérisent. Ce mode de prolifération est à rapprocher de celui utilisé normalement par la cellule vitelline

pour se reproduire à l'état épithélial. Ce procédé de multiplication directe a été individualisé en 1935, sous le nom de *méroamitose*.

Après avoir décrit d'autres faits touchant la formation de cellules du type histiocyte par des fibrocytes issus du cœur, nous reviendrons, d'une façon plus détaillée (4^e partie), sur les phénomènes de la méroamitose et sur le mécanisme des transformations envisagées. Nous chercherons à dégager leur rôle éventuel dans la physiologie générale du système histiocyttaire (réticulo-endothélial).

CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE

1^o Lorsque les cultures pures d'épithélium vitellin en flacon atteignent leur taille limite ou ont cessé de s'accroître, les grandes cellules de 100 μ donnent parfois naissance, spontanément, à une série d'éléments histiocytaires de 15 à 20 μ (1934). Cette transformation a pu être longuement et minutieusement suivie à l'état vivant et analysée par les méthodes cytologiques. Elle se poursuit durant quelques jours, mais à un rythme variable; elle gagne en général de nombreuses cellules-souches. Celles-ci distribuent toute leur substance aux cellules-filles, jusqu'à leur propre disparition.

2^o La caryocinèse n'apparaît pas chez l'élément générateur pendant cette production de cellules transformées. Chacune d'elles résulte de la division directe d'une faible partie du noyau, puis du cytoplasme de la cellule-mère. Ce processus s'effectue, en général, sur la face tournée vers la profondeur du coagulum nutritif. La caryodiérèse intéresse principalement le nucléole plasmatique qui supporte la plus grande part de la chromatine, sous l'aspect de grains séparés. Cet organite devient globuleux, uniformément basophile, amiboïde, émet de courtes expansions, provoque la formation d'un lobe nucléaire qui se sépare en un petit noyau arrondi. Celui-ci est inclus dans un autre lobe, résultant de l'individualisation d'une partie du cytoplasme qui, bientôt, se scinde. Un jeune élément est ainsi libéré, parfois en trente minutes, puis émigre.

3^o Les cellules vitellines deviennent plus réductrices lors de la création des nouveaux éléments. Ils acquièrent pendant leur formation, sans qu'il y ait de stades intermédiaires, les propriétés qui leur confèrent désormais le type histiocyte. Ils se multiplient très activement par caryocinèse, tandis que l'épithélium régresse, constituent des îlots isogéniques, puis se dispersent isolément dans tout le milieu, s'agglutinent parfois en amas volu-

mineux, mais peuvent redevenir libres. Ils sont prélevés et cultivés à l'état pur ; ils donnent des colonies typiques de macrophages.

4° Les cellules transformées — dont la structure fine est décrite — adoptent le comportement et la forme de macrophages libres, arrondis, à large membrane ondulante ; ceux de macrophages pourvus d'un prolongement cytoplasmique assez court, ou faiblement allongés ou ramifiés ; enfin ceux d'éléments très allongés et très ramifiés, avec un voile hyaloplasmique localisé en général à l'extrémité des expansions. Ces aspects sont réversibles. La coloration vitale au rouge neutre met en évidence de nombreuses vacuoles arrondies, disposées autour de la zone endoplasmique centrale. Ces éléments accumulent l'encre de Chine, le trypano-bleu et le carmin lithiné. Ils acquièrent la propriété de phagocyter des érythrocytes avec grande avidité et le pouvoir durable de synthèse uniquement à partir des protéines du sérum.

5° Le fait qu'une cellule glandulaire embryonnaire donne naissance à des éléments du type histiocyte a permis de montrer la persistance de la propriété spécifique principale, au cours de la variation : les cellules histiocytaires, bien que profondément transformées, peuvent sécréter, comme la cellule vitelline dont elles proviennent et dans les mêmes conditions, un produit figuré comparable au vitellus (1935). L'aspect, le mode d'élaboration, la composition histochimique établissent l'identité de nature des enclaves sécrétées par la cellule vitelline à ses divers états.

6° Les éléments histiocytaires peuvent, sous l'action du trypano-bleu, fusionner en syncytium réticulaire. Néanmoins, des soins appropriés favorisent le retour lent et progressif à l'individualisation, puis la reprise de l'état libre antérieur.

TROISIÈME PARTIE

LA TRANSFORMATION DES FIBROCYTES ISSUS DU CŒUR EN CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE

INTRODUCTION

La transformation en cellules histiocytaires des fibrocytes issus du cœur a été signalée ou étudiée par plusieurs auteurs dans les cultures de tissus, mais a provoqué des discussions où la passion n'était pas toujours exclue. On est allé jusqu'à nier ce phénomène ; il est cependant incontestable, et plusieurs critiques qui en ont été faites paraissent injustifiées. Il faut reconnaître, en effet, que l'étude en est difficile, car il se produit rarement de lui-même. Il est cependant nécessaire de fonder les observations sur les cas de transformation spontanée ; des tentatives expérimentales, souvent peu physiologiques, pour provoquer cette variation, modifient ou altèrent parfois le processus normal. Ainsi en est-il, par exemple, de la production de cellules rondes de dégénérescence par les fibrocytes, au cours de diverses incitations ; celles-ci n'ont, évidemment, aucun rapport avec des cellules du type histiocyte, réellement identifiables comme telles et cultivables à l'état pur. Le fait de ne réussir qu'à provoquer l'apparition de ces cellules rondes n'autorise pas à rejeter un résultat positif absolument certain, comme l'a fait TANNENBERG à propos de travaux d'autres auteurs. Ajoutons, de plus, que la transformation des fibrocytes mésenchymateux en cellules du type histiocyte est en réalité d'apparence capricieuse ; elle survient quelquefois d'elle-même, plutôt en série, sans que

rien d'appréciable ne permette d'en déceler la cause. Des substances ou des interventions qui l'ont provoquée chez une souche peuvent ne pas aboutir à des résultats semblables chez une autre. Au cours des périodes où une souche pure de fibrocytes donne naissance spontanément à des cellules histiocytaïres, les cultures non modifiées de la même lignée sont plus incitables à la transformation que celles des autres souches. Il semble que les propriétés actuelles des fibrocytes, au moment considéré, aient une importance. J'ai observé, à un an d'intervalle, deux séries de nombreuses variations spontanées en cellules histiocytaïres, dans plusieurs souches de fibrocytes issus du cœur chez l'embryon du Poulet. Les essais expérimentaux que j'ai tentés ensuite, pour reproduire cette variation, m'ont convaincu que les fibrocytes sont peu favorables à ce genre de recherches. Les résultats de ces essais sont, en effet, trop irréguliers pour être utilisés dans une statistique.

Nous allons rappeler les travaux publiés sur la transformation des fibrocytes en histiocytes.

La néoformation de cellules histiocytaïres, dans les cultures, peut résulter de la différenciation du mésenchyme précocement explanté, comme l'ont établi MAXIMOW chez le Lapin, FAURÉ-FRÉMIET et H. GARRAULT, (1932) chez la Poule. Ces derniers, confirmant V. DANTCHAKOFF et LAGUESSE, observent que des fragments prélevés avant le quatrième jour de l'incubation ne donnent, initialement, qu'un mésenchyme réticulé dans lequel se développent ensuite des cellules clasmatoctyiformes. Cette propriété du mésenchyme correspond à un stade évolutif limité.

Les macrophages sont formés encore à partir d'éléments du sang et des tissus hématopoiétiques cultivés, etc... C'est aussi le cas des cellules du réticulum de la rate, surtout lorsqu'elles sont incitées à la phagocytose (R. BORNER et G. HERZOG, 1928 ; BORNER, 1931 ; K. L. GIESCHEN, 1932, etc...), ou même, pour quelques travailleurs, de celles des endothéliums vasculaires, ce qui est controversé. Ces questions ne touchent pas directement au sujet traité dans cette partie.

Mais il arrive que les cellules du type histiocyte proviennent aussi de la transformation *in vitro*, des fibrocytes, même adultes. Cette variation est spontanée, ou provoquée par l'expérimentation.

GRAWITZ (1915), RHODA ERDMANN (1921) mettent en culture des valvules cardiaques ; ils notent que les cellules fixes donnent des éléments

mobiles, arrondis. BUSSE (1920, 1922) obtient des résultats de même ordre.

A. CARREL et A.-H. EBELING (1926) écrivent, sans donner de détails : « Nous avons souvent observé que la formation d'un centre épais, dans une culture, est accompagnée par des changements prononcés dans l'aspect des cellules périphériques qui montrent une tendance à pousser d'une façon dispersée. Deux fois au cours de quatorze ans, une transformation de ces cellules dispersées en macrophages a eu lieu. »

ALBERT FISCHER (1927) voit des macrophages — qu'il photographie — survenir spontanément, au sixième passage, à la périphérie d'une culture impeccable de cœur ; la zone de croissance, ayant été seule entretenue, la colonie ne contenait, auparavant, que des fibrocytes. Mais les repiquages sont poursuivis : les macrophages disparaissent. Ils se reforment, dans la même souche, quatre ou cinq passages plus tard, à la suite de l'addition aux cultures d'un peu de tuberculine d'origine aviaire. Ce sont des cellules libres, amiboïdes, nombreuses, sans rapport avec des éléments en dégénérescence ; elles se divisent activement ; elles sont munies d'une membrane ondulante d'une vive motilité, émettent des pseudopodes arrondis ou ramifiés. Le noyau est rond avec un ou deux nucléoles ; le cytoplasme granuleux, pourvu de vacuoles. Engagé dans d'autres recherches, FISCHER ne peut pas explorer la voie qui se présente à lui (1).

J. DE HAAN (1928) constate que le réseau d'éléments du type fibrocyte qu'il obtient des cellules migratrices, par sa méthode des cultures irriguées, est stable. Mais de fortes irritations, l'action d'extraits concentrés de leucocytes, des infections bactériennes, font passer les cellules à l'état de monocyte. K. J. FERGINGA et DE HAAN (1934) obtiennent cette variation par l'alcalinisation du milieu jusqu'à pH 8.

MILIE VON MÖLLENDORFF (1929-1932) voit des histiocytes apparaître dans des cultures durables du tissu conjonctif sous-cutané de la cuisse du Lapin adulte. Elle provoque la transformation de ces cellules par des moyens expérimentaux, en chauffant les cultures dans l'hydrogène (par exemple à 48°, pendant 7 minutes), en piquant l'aurole de croissance avec une aiguille chauffée, ou par des irritations chroniques légères : addition aux cultures d'un sel d'arsenic ou, principalement, à chaque passage, de trypano-bleu à 1/16 p. 100. Sous l'influence de ce colorant acide, les fibrocytes prennent souvent un aspect épithélioïde, ce que l'auteur observe rarement, dans les colonies non traitées. Cette disposition

(1) D'autres observations d'A. FISCHER et de ses élèves, d'une part sur l'action de l'oléate de soude et de l'uréthane, d'autre part sur l'apparition de petits éléments libres dans les cultures du stroma de la rate, sont interprétés fréquemment comme cas de transformation de fibrocytes en macrophages. C'est une erreur : il s'agit, respectivement, de l'incitation à la phagocytose de cellules restant fibrocytes, et de la naissance de petits éléments indéterminés qui ont été rapprochés des thrombocytes (p. 508).

est compatible avec l'apparition des formes histiocytaires. Celles-ci naissent, parfois, dans les cultures poursuivies pendant plusieurs mois (au 79^e passage), alors que l'incitation expérimentale a cessé depuis longtemps. Les cellules néoformées sont libres, mobiles, pourvues d'une membrane ondulante; elles accumulent les colorants acides. Leur noyau est rond ou déformé, à paroi épaisse; l'endoplasme est fortement basophile; les chondriosomes, granuleux ou allongés, ne caractérisent pas la nature de la cellule comme STRANGEWAYS l'a cru (1).

B. EPHRUSSI (1930) remarque l'apparition brusque de macrophages dans des cultures du type fibrocyte, dont l'origine serait l'endothélium hépatique; il y a des éléments intermédiaires entre les cellules amiboïdes et les fibrocytes. EPHRUSSI et Y. HUGUES (1930) voient des cellules s'isoler à la périphérie d'une colonie pure de fibrocytes; après quelques heures, elles deviennent amiboïdes, émigrent et, plus tard, acquièrent une membrane ondulante; elles phagocytent de grosses particules. Ce phénomène survient pendant plusieurs passages; il se produit aussi, en série, dans de jeunes cultures de cœur qui fournissent un matériel pour l'expérimentation. Des colonies en transformation sont nourries de plasma hépariné ou de sérum; les fibrocytes épuisent leur énergie résiduelle, les macrophages continuent à proliférer; ils utilisent donc directement le sérum, de même que ceux provenant des monocytes ou existant dans les tissus (CARREL et EBELING, 1923). Les éléments amiboïdes ont deux aspects principaux: celui de la cellule clasmatoctiforme, allongée, sans enclaves grasses, à prolongements quelquefois ramifiés, au bout desquels se développent des voiles ondulants; celui du macrophage arrondi, à large membrane ondulante. La première forme est durable, apparaît d'abord, est dépourvue d'enclaves de graisses; elle peut se transformer ensuite dans la deuxième, qui semble instable et vouée à la mort. Les cellules amiboïdes issues des fibrocytes adoptent l'état de macrophage dans l'extrait embryonnaire, lorsque la concentration atteint 25 p. 100; les éléments qui proviendraient de l'endothélium hépatique ne le font qu'à partir de celle de 75 p. 100, comme s'il persistait quelques dissemblances actuelles reflétant la différence d'origine.

W. KOKOTT (1931) lave des cultures, ayant la même origine que celle des expériences de M. VON MÖLLENDORF, avec du liquide de RINGER oxygéné et chauffé (par exemple pendant trente minutes à la température de 45°). Il obtient des éléments ronds qu'il compare aux polyblastes

(1) Des constatations de HEIM (1928), CAFFIER (1931), et d'autres pourraient être interprétées comme une transformation de cellules d'origine conjonctive en éléments amiboïdes macrophages [Voir notamment: Diskussion zu den Vorträgen von Bloom, Möllendorff, Tannenber, Seermann (*Arch. experi. Zellforsch.*, 1931, Bd. 11, S. 167-169)].

N. CHLOPIN (1931) cultive du mésenchyme embryonnaire humain dans un milieu auquel est incorporé du rouge neutre. Quelques cellules migratrices (et non les fibrocytes mûrs ou desmocytes) deviennent des macrophages typiques, ce qui ne se produit pas dans les colonies sans rouge neutre.

de MAXIMOW, d'après leur mobilité amiboïde et leur colorabilité par le rouge neutre. L'arrondissement total des cellules n'a lieu que deux à trois heures après l'irritation, ce qui indiquerait un processus chimique.

R.-C. PARKER (1932) observe la transformation spontanée en macrophages de fibrocytes issus du muscle, du cœur, du périoste, enfin de ceux de la souche CARREL-EBELING, âgée de dix-neuf ans. Le phénomène survient chez des cellules entretenues en flacon et nourries plus ou moins longtemps de plasma hépariné ; on peut constater un certain degré de dégénérescence des éléments, ou bien que, parmi deux cultures-sœurs, celle où naissent les macrophages a poussé plus lentement que l'autre. Ces cellules sont libres, actives, munies d'une membrane ondulante ; elles phagocytent. Leur formation, une fois commencée, se poursuit généralement avec une rapidité étonnante ; elles émigrent vers la couche superficielle du coagulum. Elles se multiplient et gardent leur état durant toute l'expérience. Les éléments en désagrégation doivent dégager des substances changeant profondément la composition chimique du milieu, et influencer les autres cellules.

F. VAUBEL (1933) fait des cultures de synoviale ; les cellules prennent les caractères des fibrocytes et donnent parfois naissance à des éléments ressemblant à des macrophages.

L. SPADAFINA (1933) traite des cultures de fibrocytes issus du cœur et des vaisseaux de la base du cœur, chez le Poulet de dix à quinze jours, par des autolysats de bacilles typhiques, par leur toxine ou par une solution de sulfate d'atropine à 1/10 000. Il fait apparaître, de la sorte, à la périphérie des colonies, des cellules amiboïdes pouvant phagocyter la poudre de charbon, dans une certaine mesure, et se colorant par le rouge neutre comme des macrophages (vacuoles en rosette).

Enfin, G. LEVI (1934) déclare : « Mais, quelques examens faits dans mon institut par SZANTROCH (1933) ont pu changer mon opinion. » Dans beaucoup de cultures de cœur laissées pendant plusieurs jours sans transplantation, des cellules deviennent mobiles, acquièrent une membrane vibratile souvent très large, et semblent utiliser une quantité considérable de la graisse qu'elles ont accumulée.

Parmi ces cas de transformation en macrophages, certains sont définitivement acquis ; d'autres paraissent douteux ou auraient dû être mieux établis. Il n'est pas prudent de définir la nature d'une cellule lorsque son origine et son pouvoir de prolifération n'ont pas été vérifiés avec certitude et lorsque toutes ses propriétés physiologiques n'ont pas été éprouvées. En cela, les opinions de DEMUTH (1930), de FISCHER-WASELS et de ses élèves, de WALBACH (1930), de HARTZ (1931) et d'autres, sont fondées. Cependant, les éléments arrondis,

en souffrance ou en dégénérescence, et les macrophages authentiques décrits et cultivés par quelques expérimentateurs, n'ont — il faut le répéter — pas de similitude. TANNENBERG, par exemple, en fournit une preuve à son insu, puisque les cellules rondes qu'il s'efforce d'obtenir par des moyens divers : alcaloïdes et autres produits chimiques, microorganismes, variations de température, colorants, rayons X, ne peuvent être comparés aux macrophages analysés dans un certain nombre des travaux qui viennent d'être rappelés et dans ceux qui suivent. Remarquons enfin que les auteurs n'observent, le plus souvent, que l'aspect global de la transformation des fibrocytes ; la plupart considèrent seulement le cas du passage à l'état de macrophage, des cellules isolées, surtout à la périphérie des cultures ; quelques autres invoquent, sans spécifier, la division amitotique. Toutefois une place à part (p. 510) doit être réservée aux observations de PARKER et à celles de VAUBEL.

Nous décrirons, maintenant, les résultats des observations effectuées sur les cellules *en transformation spontanée* ; ceux des investigations poursuivies sur la variation provoquée seront exposés dans la quatrième partie.

Nous chercherons finalement dans quelle mesure les faits mis en évidence, lors du passage de la cellule vitelline à l'état d'éléments histiocytaires, s'appliquent à celui des fibrocytes mésenchymateux ; nous verrons, de la sorte, s'ils présentent un caractère de généralité.

CHAPITRE PREMIER

Les deux modes de transformation des fibrocytes en cellules du type histiocyte.

Nous allons constater que les fibrocytes du cœur de l'embryon du Poulet deviennent spontanément des cellules du type histiocyte, par deux procédés, que nous désignerons, pour plus de commodité, par : *mode I* et *mode II*. Le mode I est la transformation d'un fibrocyte en une cellule histiocyttaire sans qu'il y ait de multiplication cellulaire. Le mode II est la création d'une série d'éléments du type histiocyte par un fibrocyte, à la suite de multiplications directes particulières, renouvelées.

1. — LA TRANSFORMATION D'UN FIBROCYTE EN UNE CELLULE DU TYPE HISTIOCYTE.

La séparation des fibrocytes à la périphérie des cultures, leur émigration et leur transformation progressive en autant de cellules histiocytaires sont décrites par divers auteurs et figurées pour la première fois par ALBERT FISCHER (1927). J'ai retrouvé à plusieurs reprises ce mode de variation (mode I) ; il survient principalement à la périphérie des cultures de souches jeunes, parfois dans l'auréole de croissance ; mais les lignées très anciennes possèdent aussi cette capacité, d'après CARREL et EBELING (1926), PARKER (1932).

Des fibrocytes, surtout dans les colonies qui ont terminé leur croissance, tendent à s'arrondir et à se séparer ; ils émettent des lobopodes ; leur exoplasme s'étale peu à peu en une membrane ondulante. Le phénomène est particulièrement

démonstratif dans les longs cordons que les cultures émettent quelquefois à leur périphérie. Les cellules situées à la base de ces tractus sont déjà arrondies et pourvues d'une membrane ondulante, alors que celles de la zone apicale sont encore allongées. La transformation en éléments du type fibrocyte commence donc, dans ce cas, par la région proche de l'explant, puis se propage progressivement jusqu'à l'extrémité libre. D'autres fois, elle débute par les cellules terminales des files de fibrocytes, comme le représente la planche XVIII, 4. On voit, d'un bout de la chaîne à l'autre, des éléments à divers stades de variation : d'abord allongés, puis plus ou moins étalés et séparés, enfin, ovales avec un exoplasme qui, par endroits, est déjà une membrane ondulante. Ces derniers émigrent ensuite et prennent définitivement les caractères histiocytaïres. Lorsque toutes les cellules d'un tel cordon sont remaniées, il ne subsiste à leur place qu'une série moniliforme de macrophages ronds, par exemple, qui sont quelque peu espacés, mais restent initialement orientés dans une même direction. D'autres fois, les cellules résultant de la transformation des travées de fibrocytes prennent d'emblée, sur place, l'aspect très ramifié (Pl. XXI, 3), avec un voile hyaloplasmique ondulant localisé à l'extrémité des prolongements.

Les cultures sont bientôt entourées, surtout quand la variation apparaît à leur périphérie, d'une couronne plus ou moins importante de cellules libres qui émigrent dans le coagulum et se multiplient. Parfois, au contraire, la transformation n'atteint qu'une ou quelques plages des colonies. Ces phénomènes surviennent d'habitude dans les cultures provenant de souches aptes au passage à l'état de cellules du type histiocyte et qui ont étéensemencées seulement en plasma avec des traces d'extrait. Dans un cas cependant, des fibrocytes au huitième repiquage, dans une goutte de plasma et une d'extrait à 30 p. 100, sont devenus, *in situ*, directement, dans toute l'auréole de croissance, des macrophages arrondis. Dans une même culture en transformation, les macrophages ronds à membrane ondulante et les cellules plus ou moins ramifiées à voile hyaloplasmique localisé peuvent apparaître

concurrentement. Ces aspects sont réversibles, n'étant que des états d'un même élément.

Les membranes épithélioïdes.

Des modifications des fibrocytes, surtout dans les cultures jeunes, font prévoir que ceux-ci se transformeront peut-être en cellules du type histiocyte. C'est ainsi qu'on observe qu'ils se disposent, à la périphérie des colonies, sous forme d'une membrane épithélioïde, comme l'a figuré notamment M. von MÖLLENDORFF (1932). Lorsque des cultures à membrane épithélioïde sont repiquées dans une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué d'embryon, il est assez fréquent d'observer que les fibrocytes constituant un pseudo-épithélium se libèrent et prennent les caractères des cellules histiocytaires. La planche XVIII, 1, représente une lame épithélioïde de fibrocytes disposés en mosaïque, alors que d'autres, allongés, reposent sur elle. Dans les cultures jeunes, comme celles que montre la figure, ces lames pourraient être formées par un endothélium ; mais l'observation indique que les fibrocytes allongés en tractus par-dessus la mosaïque se transforment aussi en cellules histiocytaires. La multiplication par caryocinèse (Pl. XVIII, 2) est fréquente dans les nappes épithélioïdes. Lorsque l'accroissement est terminé, les éléments se disjoignent, s'isolent de plus en plus, commencent à émigrer (Pl. XVIII, 3), deviennent progressivement des cellules du type histiocyte qui se reproduiront ensuite comme telles dans les subcultures.

Des souches de fibrocytes peuvent adopter chaque fois, pendant les premiers passages, la disposition en membrane épithélioïde. Cet aspect apparaît aussi dans des colonies qui, antérieurement, avaient la structure typique des fibrocytes ; il est donc bien clair que, dans des cas semblables, ce sont les fibrocytes eux-mêmes qui ont la possibilité de se constituer en pseudo-épithélium. Dans une même souche de fibrocytes, ne deviennent épithélioïdes que certaines cultures, favorisées du reste par un repiquage dans une goutte pendante de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué. Mais, parmi celles-ci,

quelques-unes seulement se transforment en cellules histiocytaïres ; les autres donnent à nouveau des colonies typiques de fibrocytes. L'aptitude de ceux d'une membrane épithélioïde à se transformer en cellules du type histiocyte est mise en évidence par un artifice expérimental ; si l'on plonge une de ces membranes dans une solution de trypano-bleu à 1 p. 100, dans le liquide de RINGER, on peut provoquer la libération d'une quantité d'éléments à l'état histiocytaire : les fibrocytes rétractent leur exoplasme, se séparent, accumulent du trypano-bleu, parfois développent une membrane ondulante. Les éléments, en train de passer de l'état de fibrocyte à celui de cellule histiocytaire, sont très chromophiles et retiennent fortement la laque ferrique d'hématoxyline. Ces expériences au trypano-bleu sont à rapprocher de celles effectuées par M. VON MÖLENDORFF (1932).

2. — LA FORMATION D'UNE SÉRIE DE CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE PAR UN FIBROCYTE.

La planche XIX, 1 représente des tractus de fibrocytes, à l'état vivant, au douzième passage, desquels se détachent (selon le *mode II*) des cellules rondes à voile hyaloplasmique, qui prennent dès lors des caractères histiocytaïres. On voit que les fibrocytes émettent une quantité de petits lobopodes. La production d'éléments transformés se poursuit progressivement, si bien que les tractus perdent leur structure caractéristique, alors que les cellules libres sont de plus en plus nombreuses. La planche XIX, 2 montre une culture beaucoup plus évoluée que la précédente. Plusieurs éléments ronds commencent à présenter des signes de dégénérescence ; mais, si de telles colonies sont repiquées, les cellules récemment formées conservent définitivement les caractères acquis.

Des tractus de fibrocytes en transformation, passés dans une goutte de sérum, continuent à émettre des séries d'éléments du type histiocyte : il s'agit le plus souvent, dans ce cas, de macrophages dont on distingue très nettement la large membrane ondulante étalée sur la lamelle, et de quelques cellules allongées à membrane ondulante plissée (Pl. XX).

Ces macrophages apparaissent sous forme de lobes très denses et fortement basophiles sur les tractus de fibrocytes. Un stade analogue est encore représenté à l'état vivant (Pl. XXIV, 3).

Observons maintenant, d'une façon prolongée et aussi continue que possible, l'évolution d'une culture vivante de fibrocytes donnant naissance au ralenti à des cellules histiocytaïres.

Soit un tractus de fibrocytes F (fig. 23 et 24), dessiné stade par stade, à la chambre claire, à 38°, pendant plusieurs jours, choisi dans une culture au douzième passage (il s'agit de celle de la planche XIX, 1), en plasma coagulé par des traces d'extrait dilué d'embryon. Vingt-neuf stades sur quarante-neuf ont été représentés. En période de transformation, les tractus fibrocytaires deviennent assez épais et sont animés de mouvements cytoplasmiques qui gênent considérablement l'observation des noyaux ; ceux-ci n'ont pu, fréquemment, être examinés avec certitude ; aussi n'a-t-on figuré que les globules de graisses.

Le premier jour de l'observation (fig. 23), le tractus F est anastomosé à d'autres par sa base. Son extrémité libre semble ne correspondre qu'à une seule cellule ; plusieurs lobopodes apparaissent puis disparaissent avec rapidité à sa périphérie. D'abord très allongé (stades 1 et 2), F tend (stade 3) à se séparer de ses connexions et à devenir globuleux ; le protoplasme qui le relie à la zone anastomosée s'étire et devient hyalin. Les boules de graisses cheminent dans le cytoplasme et se rassemblent dans la partie globuleuse ; des lobopodes se développent en étroites languettes ; des sillons longitudinaux, éphémères, se dessinent dans le cytoplasme. Le deuxième jour (stade 4), le fibrocyte F est individualisé ; son extrémité antérieure se termine par une expansion hyaloplasmique étalée. Du stade 5 au septième, le fibrocyte tend de plus en plus à devenir globuleux ; il continue à émettre des lobopodes qui s'allongent ou se disposent en disques, se pédiculisent, se résorbent, puis réapparaissent. Une portion du cytoplasme se dispose en un lobe qui bientôt s'efface (stade 8). Dans les heures suivantes, l'émission des lobopodes est toujours très active (stade 9) ; puis un lobe s'individualise de nouveau à la surface de F (stade 10), mais cette fois ne disparaît plus ; il est l'ébauche d'une cellule qui se sépare dans un plan supérieur. Celle-ci, A (stade 11, fig. 24), est ronde et renferme plusieurs globules de graisses provenant de F ; son bord libre est pourvu, partiellement, d'un voile hyaloplasmique. Alors que A est encore tout proche, un autre lobe se dessine à la surface de la région centrale du fibrocyte qui a diminué de volume. A, entourée d'un liséré hyaloplasmique régulier, commence à émigrer (stade 12) (il convient de noter que la distance entre A et F est plus grande en réalité dans le plan vertical qu'elle ne l'est sur le dessin, dans le plan horizontal).

A partir de ce moment, A oscille quelque temps lorsque la préparation subit un choc léger ; ce phénomène s'observe aussi chez d'autres cellules.

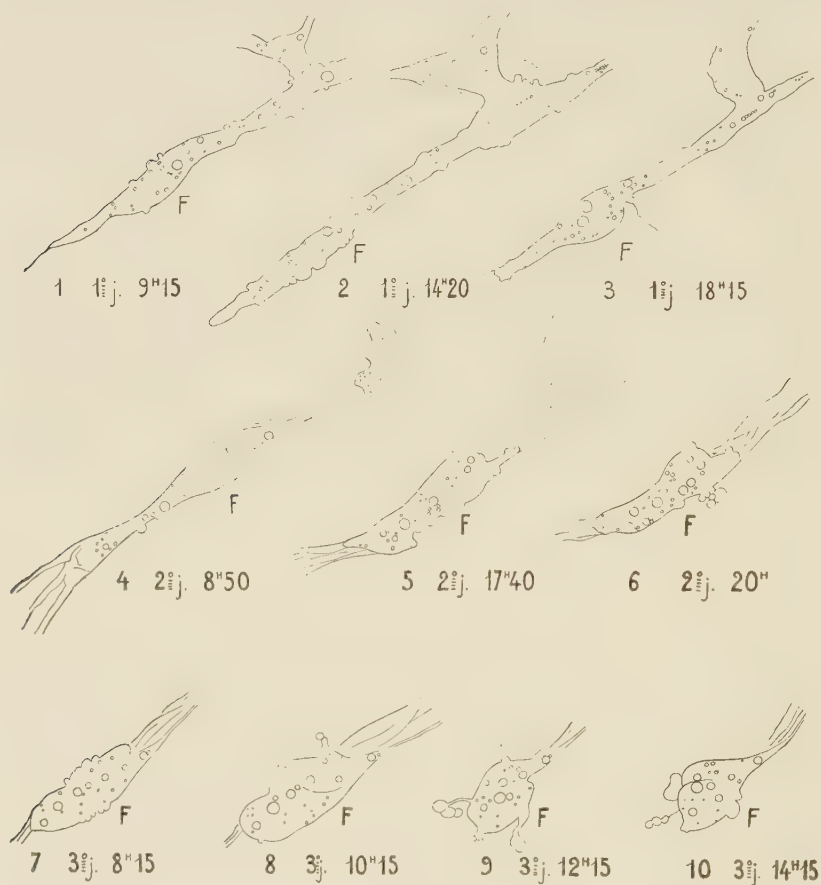


Fig. 23.

Le deuxième lobe formé sur F tend à s'effacer au stade 13, à la fin du troisième jour d'observation. A ce moment, des secousses ne provoquent plus d'oscillations de la cellule A, qui, plus éloignée, paraît bien fixée dans le coagulum nutritif.

Au début du quatrième jour (stade 14), A est sortie du champ microscopique ; elle s'est divisée, probablement par caryocinèse, en deux cellules A' et A'' qui se sont partagé les boules de graisses de A ; A' ne cesse d'émettre un feston de lobopodes. Ces deux cellules, à certains moments, semblent flotter dans le milieu de culture ; elles oscillent quand la préparation est heurtée faiblement, puis, dans la suite, font corps avec le coagulum nutritif. De plus, elles exécutent, ainsi que d'autres, alentour, des mouvements particuliers : sortes de saccades, d'oscillations

ou rotations en un seul bloc, dans le plan horizontal ; pendant ce temps, les lobopodes peuvent rester presque immobiles. Ces mouvements



Fig. 24.

0 20 μ

Fig. 23 et 24. — Transformation spontanée et ralentie d'un fibrocyte F, en cellules du type histiocyte A, B, C.

Il s'agit de la culture PL. XIX, 1, observée d'une façon prolongée à 38°, à l'état vivant, vers la fin de son évolution. Explications dans le texte. (Stade 1, 1^{er} j. = 10^e j. de la culture). Dessin à la chambre claire.

propres surviennent en série, puis cessent et reprennent plusieurs fois.

La cellule F (stade 15) est un peu allongée, présentant quelques lobopodes ; mais une heure quarante-cinq plus tard (stade 16), ceux-ci s'effacent, tandis qu'un nouveau lobe assez volumineux apparaît quelque temps. Ensuite, la cellule reste en repos pendant cinq heures quinze. Les lobopodes font alors leur réapparition, précédant d'un quart d'heure le début d'une nouvelle lobulation de F. Dix minutes plus tard (stade 17), un lobe B tend à s'individualiser à la surface de F ; c'est une cellule,

probablement en train de se séparer. Le cytoplasme de F, qui était très aréolaire, ne l'est plus que légèrement dans la moitié postérieure de la cellule ; il est homogène et finement granuleux dans la moitié antérieure ; il semble que la partie très aréolaire se soit condensée dans la cellule B. Au stade 18, une heure après, B est arrondie et a émigré dans un plan supérieur à F ; elle tremble quand on secoue la préparation ; un troisième lobe, C, s'individualise à la partie antérieure de F. Au stade 19 (trente minutes plus tard), le lobe C est séparé ; c'est maintenant, au-dessus de F, une cellule ronde ; dans la suite, celle-ci émigre et recouvre un segment de B (stade 20) ; le fibrocyte F est devenu nettement plus petit. B et C ont été formées respectivement en une heure et en quarante minutes. Au cinquième jour (stade 21), B et C ont émigré à une assez grande distance ; C est finement granuleuse ; elle fait, par intervalles, des mouvements propres d'oscillation et de rotation dans le plan horizontal ; F est un fuseau à cytoplasme très aréolaire, dépourvu de lobe. Dans les stades suivants (22 à 29) pendant les cinquième et sixième jours, F subit diverses phases de lobulation, puis s'arrondit et devient à son tour, au septième jour, une cellule ronde amiboïde.

Du fibrocyte F résultent au moins quatre cellules arrondies, amiboïdes ; les phénomènes ont suivi leur cours au ralenti en raison des conditions de l'observation : la culture était dans la dernière phase de son évolution et présentait même par places, finalement, des images de dégénérescence. Toutefois, si de semblables cultures sont repiquées, les éléments néoformés de la façon qui vient d'être décrite conservent définitivement les caractères de cellules histiocytaires et se reproduisent par caryocinèse.

3. — RÉSUMÉ PRÉLIMINAIRE DES MODES DE FORMATION ET INTERPRÉTATION.

D'après l'exposé de ce chapitre, *un fibrocyte produit donc des cellules du type histiocyte par deux procédés, parfois concomitants* : 1^o *il se transforme progressivement en une seule cellule histiocytaire sans qu'il y ait eu multiplication (mode I)* ; 2^o *il se transforme, en quelques jours, totalement, en une série de cellules du type histiocyte, à la suite de multiplications (mode II)*. Ce dernier procédé paraît le plus fréquent. Dans tous les cas examinés, entre autres ceux rapportés ici (Pl. XIX, XX et fig. 23, 24), il se présente comme résultant d'une division

directe particulière, toujours exclusive du processus caractéristique de la caryocinèse, si facilement décelable à l'état vivant, comme sur préparations colorées.

On observe chez un fibrocyte en train d'engendrer une série de cellules histiocytaires (mode II) des alternances d'activité et de repos. Les phases statiques se traduisent par l'apparition de lobopodes, de lobes cytoplasmiques et par la formation des cellules transformées ; dans les périodes dynamiques apparentes, le fibrocyte n'émet même plus de lobopodes, pendant au moins cinq heures, par exemple.

Les lobopodes se développent parfois très rapidement, puis s'effacent et se reforment à la même place ou à une autre ; on les distingue autour de la cellule en faisant des variations constantes de mise au point ; leur pourtour est généralement réfringent. Il arrive qu'ils s'étalent comme une goutte d'huile, prennent l'aspect d'un feston ou celui de disques parfaitement arrondis, implantés par un pédoncule quelquefois assez long ; qu'ils se divisent en disques secondaires, qu'ils affectent la forme de languettes droites ou sinueuses, lobées, boudinées, dont l'extrémité s'infléchit en arc et revient se souder au cytoplasme de la mère, avant la rétraction progressive de l'ensemble. Des boules de graisses très fines peuvent être entraînées brusquement dans un lobopode naissant et y être agitées, comme du mouvement brownien.

Après quelques tentatives d'individualisation, un lobe se dessine et persiste sur le fibrocyte, le plus souvent à la région moyenne. Ce lobe représente une cellule histiocytaire en cours de formation ; il se sépare en effet du fibrocyte — en général de la face tournée vers la profondeur du coagulum — sous l'aspect d'une cellule libre, arrondie, pourvue d'un noyau et d'un voile hyaloplasmique ondulant. Dans les conditions de l'observation, le jeune élément se projette sur le fibrocyte-souche, ce qui, avec l'émission des lobopodes, la structure aréolaire du cytoplasme, la présence d'enclaves grasses, rend très difficile l'observation des phénomènes nucléaires au fort grossissement (Voir plus loin, p. 483). Après le départ de la jeune cellule qui entraîne souvent du cytoplasme alvéolaire et des boules de graisses, la structure du fibrocyte est beaucoup

plus homogène, mais elle redevient aréolaire dans la suite. Parfois, dans les cellules en développement ou déjà libérées, les boules de graisses prennent rapidement une teinte jaune doré foncé.

Un même fibrocyte peut engendrer une série d'éléments histiocytaïres à des intervalles différents, pendant plusieurs jours ; il diminue de taille et se résout, en définitive, en une dernière cellule libre amiboïde. Nous avons vu (p. 469) deux cellules B et C être formées successivement, la première en une heure au plus, l'autre en quarante minutes ; ces durées, limitées juste au stade de la séparation proprement dite, seraient probablement un peu inférieures.

Il est curieux de constater que, par périodes, les cellules récemment libérées n'adhèrent pas aux mailles du réseau de fibrine ; elles oscillent lorsqu'on fait trembler la préparation. Dans la suite, un quart d'heure après, par exemple, elles adhèrent derechef au coagulum ; tout se passe comme si elles produisaient autour d'elles de petites zones de liquéfaction qu'elles franchissent au cours de leur émigration. Enfin, ces cellules exécutent parfois, peu après leur naissance, des séries renouvelées de mouvements propres, indépendants de l'activité amiboïde, de l'action des lobopodes ou de la présence d'autres éléments dans le voisinage : sortes de petites saccades ou d'oscillations de faible amplitude, sur place, de droite à gauche et *vice versa*. Les cellules néoformées s'accolent fréquemment aux fibrocytes ; après quelques heures, ou plus, elles se libèrent, redeviennent arrondies et pourvues d'une membrane ondulante ; leur bord libre peut d'ailleurs conserver un voile hyaloplasmique pendant la période d'accolement.

Les observations poursuivies sur le matériel vivant en transformation spontanée sont toutefois insuffisantes, à cause de leurs difficultés mêmes. Nous les compléterons, au chapitre III (p. 483), par l'étude cytologique des préparations fixées et colorées, ainsi que par l'analyse cytophysiologique des éléments néoformés.

CHAPITRE II

Les particularités du phénomène de la transformation des fibrocytes en cellules du type histiocyte.

1. — L'ÉVOLUTION DES CULTURES EN TRANSFORMATION.

La transformation des fibrocytes en cellules histiocytaires se manifeste spontanément, surtout dans les cultures où l'extrait dilué d'embryon a été supprimé, ou est en quantité extrêmement faible. Dans ces conditions, il est possible de garder plus d'une semaine de telles colonies en goutte pendante, avant que ne dégénèrent les fibrocytes qui subissent la variation. Parfois, celle-ci apparaît à la fin de la croissance, chez les cultures faites dans du plasma et de l'extrait embryonnaire à parties égales. En ce cas, les cellules peuvent adopter d'emblée la forme de macrophages arrondis à membrane ondulante étalée et être conservées, pendant plusieurs jours encore, sans dégénérer fortement.

La transformation en cellules histiocytaires, lorsqu'elle apparaît d'abord dans une plage de quelques cellules, peut gagner progressivement toute l'auréole de croissance. Il arrive qu'elle ne touche, un certain temps, qu'une zone limitée, puis s'étende assez vite à l'ensemble de l'auréole ; ou, au contraire, qu'elle cesse d'elle-même, d'une façon définitive ou temporaire : les fibrocytes, sans que la culture ait subi de soins nouveaux, recommencent alors à se transformer ; enfin, que les éléments histiocytaires néoformés entrent tardivement et soudainement dans une période de multiplication intense, alors que les fibrocytes non remaniés dégénèrent. Des colonies, qui, d'après certains symptômes, laissent supposer

qu'elles sont près de se métamorphoser, mais qui, cependant, ne progressent pas dans leur évolution, peuvent subir la transformation en cellules histiocytaires au passage suivant, dans un milieu ne contenant que des traces d'extrait d'embryon.

Si les repiquages sont pratiqués, les cultures de fibrocytes étant en cours de variation, plusieurs alternatives sont offertes aux subcultures qui en résultent, selon le degré d'extension du processus : majorité des fibrocytes qui, parfois, persistent seuls ou recommencent à se transformer ; coexistence de cellules histiocytaires et de fibrocytes continuant leur transformation ; enfin, prédominance des histiocytes, qui, dans la suite, sont isolés à l'état pur. Dans ces diverses modalités, les nouveaux éléments apparaissent sous forme de macrophages arrondis à membrane ondulante ou de cellules ramifiées.

Les îlots isogéniques et les agglutinats.

Lorsque les cellules histiocytaires se multiplient dans des cultures de fibrocytes où elles viennent de prendre naissance, elles peuvent former des îlots isogéniques axiaux, ou plus fréquemment coronaires (Pl. XXIV, 4), disséminés tout d'abord dans le coagulum. Dans la suite, elles s'espacent de plus en plus, émigrent ; la structure en îlots est détruite et le milieu de culture envahi dans tous les plans.

Il arrive aussi que les éléments en multiplication se groupent étroitement, puis constituent des agglutinats de taille plus ou moins considérable, dans lesquels les cellules sont souvent arrondies (Pl. XXI, 1 et 2) et conservent, lorsqu'elles sont à la périphérie, une membrane ondulante caractéristique. L'agglutination ne dépend pas seulement de la densité de la population ; elle se produit, alors que les cellules sont encore peu nombreuses et disposent d'un espace assez important. Dans ces colonies, elle représente peut-être un passage à une sorte d'état associé (LISON, 1930) ; elle n'a pas uniquement, en effet, la signification d'un phénomène de dégénérescence, car on observe que les cellules se libèrent des agglutinats et reprennent la vie indépendante qu'elles avaient auparavant.

2. — LES PLASMODES ET L'INDIVIDUALISATION DES CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE.

Les éléments histiocytaïres provenant de la transformation des fibrocytes ne font pas que s'agglutiner ; ils fusionnent, parfois, et constituent de véritables plasmodes, souvent de grande taille, dont l'évolution a paru intéressante. Dans ceux-ci, il y a bien fusion des cellules ; le cheminement des enclaves grasses, par exemple, ne laisse pas de doute sur la réelle continuité du cytoplasme de l'ensemble. Or, il est curieux de constater que des cellules histiocytaïres s'individualisent à nouveau et émigrent, à partir de ces plasmodes qui restent en remaniement constant. Dans le cas rapporté ici (fig. 25 et 26), on a suivi, longuement, l'évolution de l'un d'entre eux qui provenait de fibrocytes se transformant en éléments histiocytaïres. On a figuré vingt-huit stades sur trente-sept, dessinés directement à la chambre claire, à la température de 38° ; les noyaux sont indiqués en pointillé, seulement dans le cas où leur observation est certaine, ce qui est peu fréquent, le plasmode étant globuleux ; les boules de graisses ont été représentées.

Soit un plasmode P (fig. 25, stade 1), au premier jour de l'observation ; on y distingue quatre noyaux, au moins, et quelques lobes cytoplasmiques superficiels ; les enclaves de graisses sont peu nombreuses ; une expansion cytoplasmique en pointe existe dans la région A. L'observation ayant été, en réalité, commencée la veille du jour désigné comme le premier, on a vu que, de cette région A, une cellule s'est déjà individualisée et libérée. Le même phénomène se renouvelle au cours des stades figurés le premier jour ; c'est ainsi que l'expansion A s'allonge rapidement ; dix minutes plus tard (stade 2), A s'est beaucoup développée ; son extrémité libre se termine par une lame hyaloplasmique ; des enclaves grasses cheminent du plasmode P dans le pédicule de A. On ne distingue, à ce moment, qu'un seul des noyaux de P et deux lobes arrondis à la surface du cytoplasme. Quinze minutes après (stade 3), une cellule A se sépare de P ; elle émigre aussitôt (stade 4), son noyau est bien visible, elle est amiboïde. A se dirige vers un autre petit plasmode P', situé à quelque distance de P, et s'y accole (stade 5) ; mais vingt-cinq minutes plus tard, elle se sépare de P' (stade 6). La cellule A, dont le noyau est toujours bien apparent, est douée d'un amiboïsme rapide ; elle progresse à nouveau

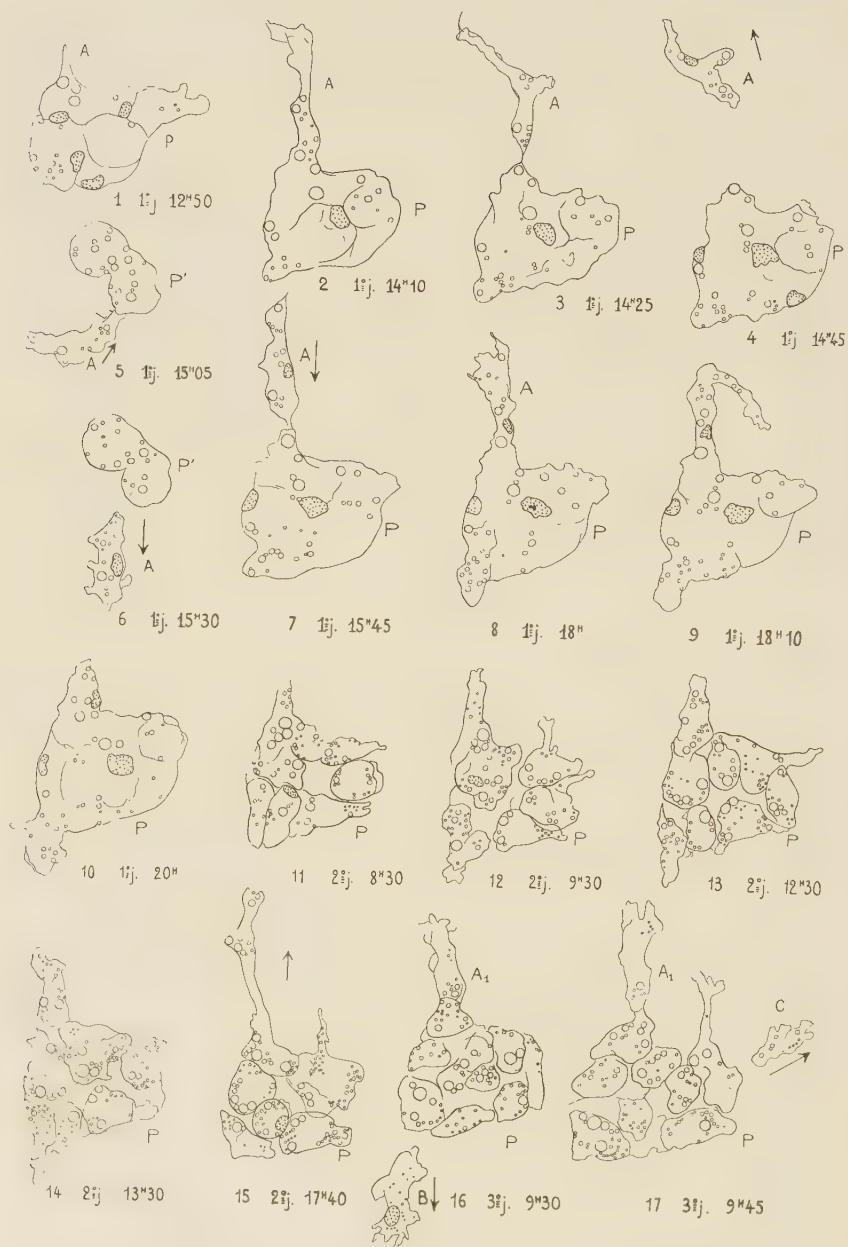
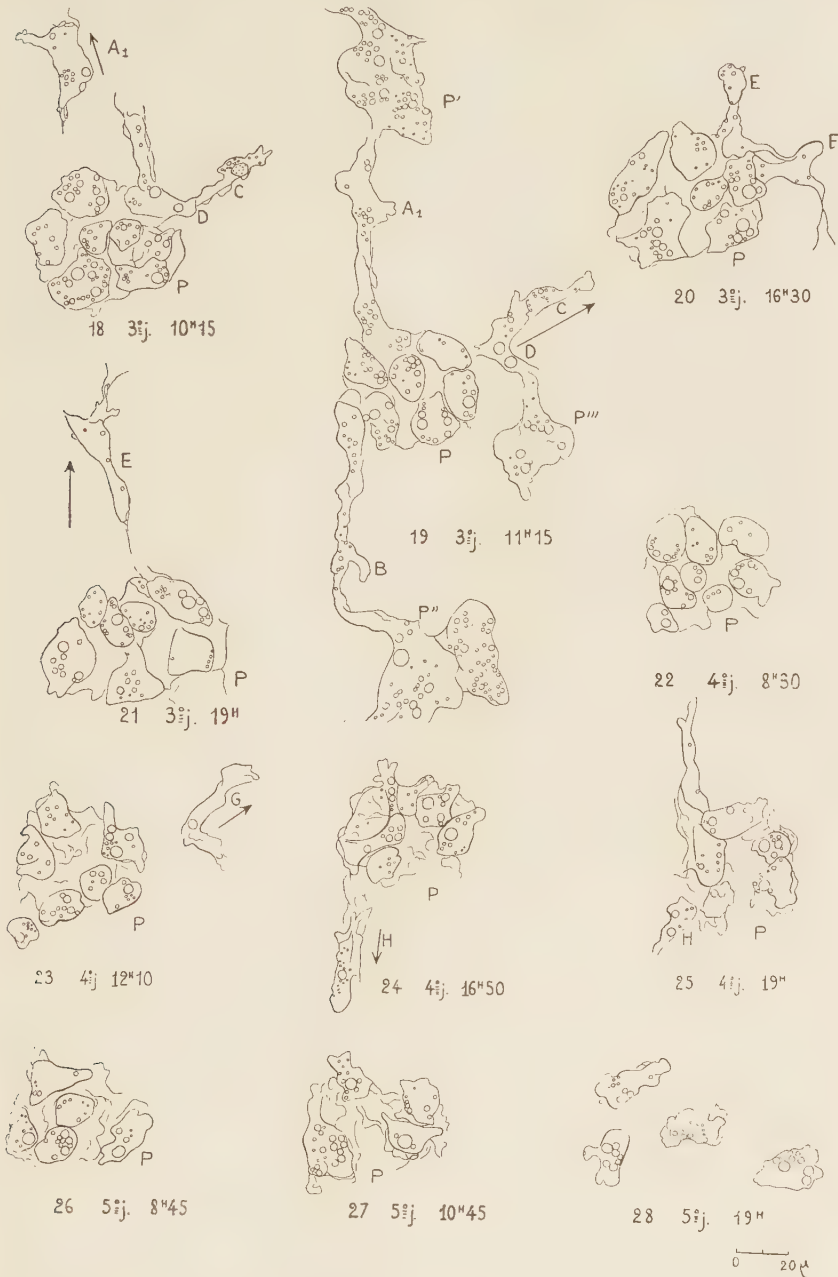


Fig. 25 et 26. — Évolution d'un plasmode résultant de la fusion de cellules du type histiocyte qui proviennent de la transformation spontanée des fibrocytes de cœur.

Le plasmode P est d'abord dense et globuleux avec quelques noyaux (en pointillé), le plus souvent peu visibles, et des boules de graisses. Le cytoplasme dessine des lobes en modification constante qui s'espacent et sont reliés par un voile hyaloplasmique. Des



cellules A, B, C, D, E, F s'individualisent à partir de P, émigrent, reviennent parfois se souder à P, ou établissent des communications avec des plasmodes voisins P', P'', P'''. P diminue progressivement de taille ; il ne reste de lui, en définitive, que quatre macrophages libres. (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces ; stade 1 = 8^e j.). Observation prolongée à l'état vivant, avec l'objectif à immersion, à 38°. Dessin à la chambre claire.

vers P, entre en contact avec lui un quart d'heure plus tard (stade 7), dans la région même d'où elle était partie. Au bout de vingt-cinq minutes, elle se libère derechef, puis va s'accoler pour la deuxième fois à P'. Pendant cette période, son noyau reste toujours visible ; elle se sépare encore de P', revient vers P, le quitte, chemine vers P', se détache encore une fois et va se souder à P. Au stade 8, la cellule A fait réellement partie de P, auquel elle adhère par une base d'implantation assez large ; elle a repris l'aspect d'une expansion allongée qui, pendant quelque temps, s'étire en isthme, s'infléchit (stade 9), puis finalement se rétracte d'une façon progressive, jusqu'à être incorporée à P (stade 10). Les enclaves grasses de A passent dans P, comme si les cytoplasmes de A et de P n'étaient pas séparés.

Le deuxième jour (stade 11), P a changé d'aspect ; six lobes se distinguent à sa surface, la plupart sont bien délimités. Dans la région voisine du centre, ceux-ci laissent entre eux un espace quadrangulaire, occupé seulement par l'hyaloplasme ; un lobe arrondi est bordé, du côté libre, d'une membrane ondulante. Les enclaves grasses sont un peu plus nombreuses ; le protoplasme, par contre, est moins aréolaire qu'il n'était les jours précédents, comme si un remaniement s'était produit. En une heure (stade 12), les lobes ont à nouveau bien varié ; on en distingue six, ménageant entre eux un large intervalle hyaloplasmique ; de leur périphérie croissent des expansions cytoplasmiques qui se rétractent. Dans les heures suivantes (stades 13 et 14), le nombre des lobes est tantôt de huit, tantôt de sept ; l'espace central est en perpétuelle modification. Un prolongement, chargé de quelques boules de graisses, part de la région où la cellule A est revenue s'intégrer au sein de P. Celui-là s'accroît quelques heures plus tard (stade 15) ; il n'est rattaché à P que par une languette ; il s'allonge encore et, sans se séparer de P, entre en contact avec un petit plasmode P', dont il a déjà été question ; on observe, au cours de cet étirement, que A renferme un noyau.

Au troisième jour (stade 16), une expansion persiste, à la place de A, nous la désignerons par A₁. Une autre, en outre, a commencé à se séparer de P, dix minutes avant le stade 16 ; elle s'est individualisée sous forme d'une cellule amiboïde B, légèrement allongée, entourée d'hyaloplasme et dont le noyau ovale, situé près de l'extrémité antérieure, est bien visible. B s'éloigne rapidement dans la direction d'un autre groupe cellulaire P'' (non figuré), qu'elle aborde puis abandonne ; mais elle revient, quinze minutes plus tard, fusionner intimement avec le groupe P'' (stade 17). Dans une autre région de P, une cellule C se libère à son tour ; enfin cinq minutes s'étant écoulées, l'expansion A₁ se détache. Il se peut que la cellule A₁ soit formée par des matériaux cellulaires différents de ceux qui constituaient A, réintégrée dans P l'avant-veille. Au stade 18 (fig. 26), A₁ est en train d'émigrer, tandis que la cellule C, qui était parfaitement séparée de P, est revenue se souder à lui par une lame hyaloplasmique. En quinze minutes A₁ rejoint le plasmode P', déjà cité. Enfin, P émet une

nouvelle expansion, dans la région D ; celle-ci s'accroît assez rapidement jusqu'à rencontrer un autre plasmode voisin P'''. Au stade 19, P est relié par l'intermédiaire des cellules ou des expansions qu'il a émises : A₁, B, D, aux trois groupes plasmodiaux situés dans son voisinage : P', P'', P''' ; ceux-ci, en outre, sont en relation avec d'autres groupes plus éloignés ; l'aspect rappelle celui d'un réticulum. Dans les heures suivantes, les communications entre P et les plasmodes qui l'entourent sont rompues. Les cellules A₁ et B, au stade 20, sont éloignées de P ; D est toujours en relation avec P''', puis ne tarde pas à se libérer. Un autre prolongement, E, qui commençait à se dessiner il y a quelques heures, est maintenant bien individualisé. De plus, une ébauche apparaît dans la région F. P réunit huit lobes, délimitant vraisemblablement des territoires cellulaires, entre lesquels les espaces hyaloplasmiques ont augmenté de surface ; une membrane ondulante est visible, de temps à autre, à leur périphérie. On ne distingue plus, stade 21, que sept lobes largement espacés, mais toujours reliés par l'hyaloplasme ; P est séparé de toute connexion ; de l'ébauche E, résulte une cellule qui émigre et de F, une autre, déjà assez éloignée (non figurée faute de place).

Au début du quatrième jour (stade 22), le plasmode P comprend huit lobes arrondis, reliés entre eux par l'hyaloplasme ; l'ensemble a nettement diminué de taille. Dans les heures suivantes, une expansion apparaît à nouveau et se résorbe. Au stade 23, les lobes sont au nombre de sept, avec, entre eux, un grand espace hyaloplasmique ; on croit par instant qu'ils vont définitivement se disperser, mais on constate ensuite leur regroupement ; une nouvelle cellule, G, émigre et entre en relation avec un groupe voisin. Dans la suite, une autre cellule, H, se libère, s'éloigne de P, s'en approche, s'écarte à nouveau, puis (stade 24) reprend contact avec une région hyaloplasmique de P, dont elle fait partie au stade 25, tandis qu'une autre expansion se développe ailleurs.

Au cinquième jour de l'observation (stade 26), P se compose de cinq lobes reliés entre eux ; mais, dans les heures suivantes (stade 27), il n'y a plus, sur un fond d'hyaloplasme très étendu, que quatre lobes entourés eux-mêmes de membranes ondulantes. Enfin, au stade 28, il ne reste de P que quatre macrophages plus ou moins arrondis, bien séparés les uns des autres, pourvus de voiles ondulants. Au début du sixième jour, ils se sont dispersés.

En somme, pendant l'évolution du plasmode P, suivie directement, les matériaux des cellules qui avaient fusionné sont en remaniement constant : le cytoplasme se répartit en lobes, dont le nombre (pair ou impair), la taille, la disposition sont sujets à des variations fréquentes et qui, reliés par de l'hyaloplasme, tendent à s'espacer. Neuf cellules macrophages,

au moins, durant quatre jours, s'individualisent, puis se libèrent du plasmode qui diminue de volume. Finalement, il ne reste de celui-ci que quatre macrophages.

Après le départ d'une cellule, le plasmode est moins aréolaire ; les éléments qui se sont isolés y font parfois retour. Lors de la formation de ces treize cellules, la multiplication par caryocinèse n'a pas été observée. Il se peut que la séparation des cellules corresponde à l'individualisation d'autant d'énergides, car l'analyse complète des noyaux vivants n'a pas été possible ; mais il est plus vraisemblable que des éléments, dans cette série, soient le fruit d'une multiplication amitotique, analogue à celle que les fibrocytes utilisent lors de leur transformation en macrophages.

Il arrive que des fibrocytes encore étalés, dans une culture en sérum donnant naissance à des cellules histiocytaires, se rétractent brusquement (pendant une durée de l'ordre de la minute) et se disposent en plasmodes globuleux, très peu chargés de graisses d'où se séparent, ensuite, des macrophages. Suivons l'évolution d'un de ces plasmodes (fig. 27) :

Dix minutes après la rétraction observée dans cette culture, le plasmode est sphéroïdal, avec quelques lobes périphériques. D'autres amas, quatre ou cinq fois plus gros, existent alentour. Cette masse globuleuse se répartit assez rapidement en lobes homogènes, individualisés, variant rapidement de forme et de disposition, autour desquels apparaissent des membranes ondulantes. Ils s'espacent quelque peu et laissent entre eux une nappe hyaloplasmique. Dans les stades terminaux, neuf cellules arrondies sont bien délimitées ; elles restent agglutinées, sauf une, pourvue d'une membrane ondulante et qui émigre.

3. — LA RÉGÉNÉRATION DES CULTURES EN TRANSFORMATION.

Excisons largement la région centrale de cultures de fibrocytes se transformant en cellules histiocytaires et suivons la régénération, dans cette zone recouverte d'une goutte de plasma coagulé par des traces d'extrait dilué d'embryon (Pl. XXIV, 1 et 2). La composition de la partie régénérée dépend du nombre de cellules de chaque sorte, persistant, dans le reste de l'auréole. Les diverses alternatives possibles sont, en somme,

celles qui se produisent lorsqu'on repique les cultures en transformation (p. 474) ; les éléments en régénération sont des fibrocytes ou des cellules histiocytaïres, ou encore des fibrocytes chez lesquels réapparaît l'évolution en cellules du type histiocyte.

Les cellules progressent de toute la périphérie de la zone excisée vers le centre. Les fibrocytes sont larges, souvent éta-

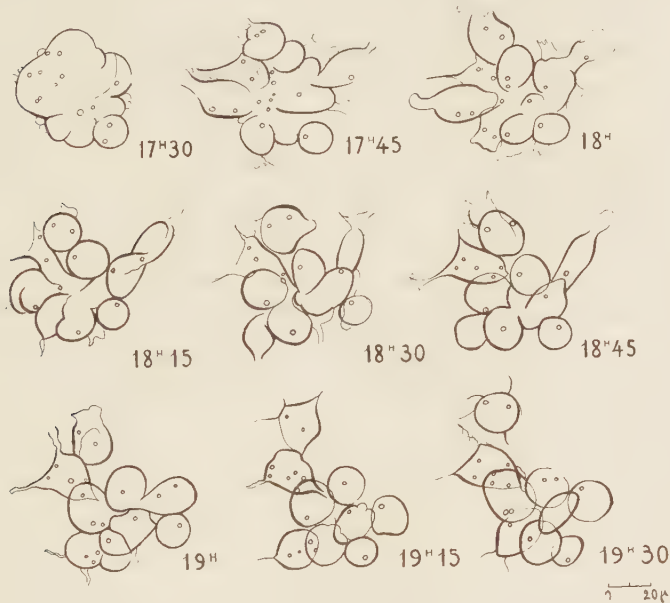


Fig. 27. — Évolution d'un plasmode formé très rapidement par des fibrocytes de cœur, dans une culture où se manifeste la transformation spontanée en cellules du type histiocyte.

Dans ce plasmode globuleux, des cellules s'individualisent sous forme de macrophages arrondis, en partie pourvus d'une membrane ondulante. (Sérum : 1 g., TYRODE : 1 g., e. dilué : traces ; 38°). Dessin à la chambre claire.

lés ; entre eux, existent de beaux macrophages et des éléments du type histiocyte ramifié, se multipliant par caryocinèse (parfois atypiques). Après le quatrième jour, la régénération est presque complète (Pl. XXIV, 2) ; les macrophages sont seulement plus espacés dans la région centrale ; des fibrocytes à orientation centripète, au bord de la zone reconstituée, subissent la transformation. On voit (Pl. XXIV, 3) que les macrophages naissent sur une face des fibrocytes étalés, d'après le

mode particulier de multiplication directe, déjà étudié (p. 470). On n'observe pas de mitose, lors de la création de ces macrophages par les fibrocytes régénérés.

A la périphérie de la culture, dans l'ancien coagulum, la transformation devient totale ; les cellules néoformées se multiplient très activement, se disposent, tout d'abord, en îlots isogéniques coronaires (Pl. XXIV, 4), puis envahissent la plus grande partie du milieu (Pl. XXIV, 1); elles sont en général allongées ou plus ou moins ramifiées, avec un voile hyaloplasmique localisé aux extrémités du cytoplasme (Pl. XXIV, 5). Dans la zone centrale, on rencontre des macrophages arrondis, entourés d'une large membrane ondulante et des éléments allongés ou un peu ramifiés.

Selon les conditions des expériences, la transformation des fibrocytes en régénération est parfaitement possible, au moins lorsque la multiplication commence à se ralentir. Les cellules issues des fibrocytes, dans la zone régénérée, peuvent apparaître d'emblée sous l'aspect du macrophage arrondi à membrane ondulante et devenir ensuite allongées et plus ou moins ramifiées.

CHAPITRE III

Les phénomènes cytologiques et physiologiques au cours de la transformation des fibrocytes en cellules du type histiocyte.

1. — LA FORMATION DES CELLULES DU TYPE HISTIOCYTE. LES PHÉNOMÈNES NUCLÉAIRES.

Dans les chapitres précédents, nous avons vu que les cellules du type histiocyte prenaient naissance selon deux modes différents, à partir des fibrocytes issus des cultures du cœur ; mais les observations, effectuées minutieusement sur le matériel vivant, demandent à être précisées et complétées ; elles nous serviront simplement de cadre où disposer avec sûreté les résultats de l'étude cytologique.

Le mode I : la transformation d'un fibrocyte en un seul élément histiocyttaire s'effectue progressivement, sans qu'il y ait de multiplication cellulaire. Les préparations colorées fournissent seulement quelques détails, s'ajoutant à la description des stades figurés à l'état vivant (Pl. XVIII). Mentionnons que la chromatine du noyau du fibrocyte, plus intensément basophile, peut se répartir d'une façon dispersée, lors de la variation.

Le mode II, plus général : la transformation d'un fibrocyte en une série d'éléments histiocyttaires se produit à la suite de divisions cellulaires renouvelées, qui n'ont jamais été la caryocinèse dans nos observations.

Toutefois, avant d'entrer dans le détail de ce mode, faisons état, pour l'éliminer, d'une cause d'erreur d'interprétation : la pullulation amitotique des noyaux. Les fibrocytes

ont cessé de se multiplier par caryocinèse lorsqu'ils engendrent des cellules du type histiocyte; or, pendant cette période, on observe que les noyaux sont fréquemment le siège d'une multiplication endoamitotique, qui, en milieu liquide, comme le sérum, est assez intense.

La figure 28 représente deux fibrocytes étalés, chez une culture en transformation, dans une goutte de sérum contenant des traces d'extrait



Fig. 28. — Deux grands fibrocytes étalés sur verre, dans une culture de cœur en transformation spontanée en cellules du type histiocyte.

Multiplication des noyaux par amitoses (endoamitoses) le plus souvent inégales. Cette multiplication, en partie dégénérative, doit être nettement distinguée des phénomènes nucléaires, concomitants dans la culture, de la formation des cellules histiocytaires. (Sérum : 1 g., e. e. : traces ; 4^e jour). Fix. : alcool-acide trichloracétique. Color. : hémato. de MINCK, carmin de BEST.

dilué d'embryon. Dans chacun, les noyaux se multiplient par division directe, égale ou inégale ; un noyau en a émis deux autres, de plus petite taille. Il est probable que cette pullulation traduit un certain degré de dégénérescence, surtout en milieu liquide, état qui est cependant parfaitement compatible avec la formation de cellules histiocytaires aptes à la multiplication.

Les stades qui traduisent la division elle-même, d'où ré-

sulte la cellule histiocytaire, sont relativement difficiles à mettre en évidence : il faut réussir à obtenir de bonnes préparations qui les renferment ; or, la division qui s'effectue sur le fibrocyte et la basophilie des cellules sont en général fort gênantes. Ces difficultés sont surmontées, quand on a soin de repiquer les fibrocytes — dans lesquels on rencontre, par chance, la transformation spontanée en éléments du type histiocyte — dans une goutte pendante de sérum, par exemple, et qu'on fixe la culture au moment opportun. La coloration à l'hématoxyline, surtout après postchromisation, doit être soigneusement différenciée.

Lorsque les fibrocytes vont donner naissance par division à des cellules du type histiocyte, on observe, en général, que dans le noyau qui reste ovale la substance chromatique subit des modifications (Pl. XXII, 1). Les plasmosomes, sur lesquels celle-ci est d'habitude en grande partie condensée (1), deviennent uniformément basophiles, souvent anguleux, augmentent de taille, émettent de petites expansions qui traduisent, en partie, l'activité amiboïde. Elles-mêmes sont basophiles, peuvent être allongées en languettes ou plus ou moins arrondies ; on en compte deux, quelquefois trois et même quatre. Il arrive qu'un petit lobe basophile soit aperçu sur le plasmosome. Le cytoplasme est aussi le siège de variations. L'endoplasme se condense en un amas central groupant autour du noyau tous les chondriosomes : chondriocontes flexueux assez courts, enchevêtrés, et quelques mitochondries, principalement entre les enclaves de graisses. L'exoplasme se développe, s'étale et se dispose sur la cellule en plis longitudinaux.

La planche XXIII représente quelques stades principaux de la formation des cellules du type histiocyte, faisant suite au précédent (Pl. XXII, 1) ; ils ont été choisis dans la préparation déjà décrite (Pl. XX), qui indique bien, au grossissement moyen, le mode global d'apparition des cellules néoformées.

(1) La chromatine constitue, en général, une ou deux masses denses ; on distingue cependant, surtout dans les cellules étalées (après fixation au liquide de FLEMMING et coloration à la safranine vert lumière, voir p. 354), qu'elle est coagulée en petites masses ou granules irréguliers, en bordure ou dans un petit plasmosome acidophile.

Stade 1, un fibrocyte étalé est en train de créer une cellule histiocyttaire ; il est fort probable que, parmi cinq autres éléments déjà libérés alentour, quelques-uns résultent de ce fibrocyte. Le cytoplasme est, d'une manière générale, assez fortement basophile ; l'exoplasme, étalé en membrane hyaloplasmique, peut se disposer en plis à la surface de la cellule ; l'endoplasme est très fortement basophile. Celui-ci doit cette propriété, en majeure partie, à des lipines diffuses qui lui donnent une teinte bleu noir, par coloration à l'hématoxyline de KULTSCHITZKY, après postchromisation ; des lipines, sont aussi condensées en de nombreuses boules ou en amas de grosseurs différentes ; quelques enclaves de graisses sont dissoutes par les réactifs. Le noyau, N, du fibrocyte est ovale (16 μ de longueur, sur 8 μ de largeur, environ), situé non loin du centre de la cellule ; il contient deux plasmosomes éloignés l'un de l'autre, recouverts de chromatine intensément basophile. L'un d'eux est globuleux, un peu augmenté de volume, a un contour assez régulier ; l'autre, de taille plus considérable, est anguleux, émet une petite expansion basophile mince. Il occupe la région centrale d'un lobe arrondi, nH (7 μ de longueur, sur 5 μ ,5 de largeur environ), qui s'individualise en surface, à partir du noyau N, dont il recouvre plus du tiers. Ce lobe est bien délimité par une ligne retenant l'hématoxyline. De plus, une petite zone cytoplasmique, cH, se différencie autour du lobe nucléaire nH ; elle est nettement plus basophile que l'ensemble de l'endoplasme du fibrocyte, par suite d'une très forte accumulation de lipines. La limite de cette zone cytoplasmique est peu marquée ; cependant, sa partie principale, à la droite du noyau, a un contour défini ; son autre portion, renfermant d'assez gros amas lipiniques L, se projette sur le noyau N, à la périphérie de nH.

Le lobe nH a été vraisemblablement fixé à un stade très voisin de sa séparation, dans le plan horizontal, d'avec le noyau-souche N ; la région cytoplasmique cH, très chargée de lipines, n'est qu'au début de son individualisation autour du lobe ou noyau nH, à partir de l'endoplasme du fibrocyte.

L'accumulation des lipines s'intensifie encore dans les stades ultérieurs, comme le montre la figure 3, planche XXIX. On y voit deux cellules coalescentes : un fibrocyte en période de transformation et un macrophage à membrane ondulante typique, provenant très probablement de ce fibrocyte. Ce dernier a un noyau ovale avec deux plasmosomes de grande taille à chromatine fortement basophile, l'un arrondi, l'autre anguleux, et un endoplasme dans lequel on met en évidence, d'une part, une grande quantité de lipines diffuses et, d'autre part, de grosses boules plus ou moins sphériques de lipines condensées ; certaines sont de grande taille. Des chondriocotes assez courts existent dans la région périphérique de l'endoplasme. Quelques petites enclaves de graisses ont été dissoutes par les réactifs.

Reportons-nous à la planche XXIII. Aux stades 2 et 3, on a représenté

seulement le noyau N d'un fibrocyte, au-dessus duquel est une cellule du type histiocyte qu'il vient de former. Le noyau arrondi nH (stade 2), à chromatine dispersée, est encore près de la région du plasmosome P du noyau du fibrocyte-souche. P est de grande taille, anguleux, émet des expansions, supporte de la chromatine intensément basophile; il est aperçu par transparence, à travers le cytoplasme cH de la cellule néoformée. Ce dernier très récemment séparé, semble-t-il, démasque à peine le noyau N; il est fortement basophile, très chargé de lipines; les enclaves grasses dissoutes y sont assez nombreuses. A sa périphérie, un voile hyaloplasmique plissé, peu développé, représente, par endroits, l'ébauche de la membrane ondulante.

Stade 3, un macrophage commence à quitter la région nucléaire du fibrocyte qui vient de lui donner naissance et sur laquelle il se projette encore; le cytoplasme cH , très chargé de lipines diffuses et de quelques boules de graisses, est extrêmement basophile, un peu allongé, pourvu à sa périphérie d'une courte membrane ondulante plissée, terminé à sa partie postérieure par un tractus hyaloplasmique étiré; le noyau nH , arrondi, est lui-même très basophile. On remarquera, comme au stade 2, que le noyau nH du macrophage est encore voisin du plasmosome P du noyau-souche.

Au stade 4 (Pl. XXIII), un macrophage est sur le point d'abandonner définitivement le fibrocyte dont il est issu. Celui-ci est allongé et assez étalé; son noyau N, ovale, contient deux plasmosomes P dont la taille et l'aspect sont redevenus analogues à ceux qu'on observe d'habitude; ils ne groupent qu'une partie de la chromatine. L'exoplasme fait encore quelques plis longitudinaux. Le macrophage est situé sur une extrémité du fibrocyte. Son noyau nH est arrondi, pourvu d'une petite masse et de granules de chromatine; son cytoplasme cH comprend un endoplasme basophile, autour duquel s'observent de nombreuses boules de graisses et quelques petites granulations lipiniques, ainsi qu'un exoplasme qui s'étale en une large membrane ondulante plissée. Ce macrophage est d'allure générale arrondie du côté libre, mais il se prolonge, postérieurement, par un tractus cytoplasmique étiré, dont l'extrémité est perçue jusque sur la partie périphérique du noyau du fibrocyte, comme si le cytoplasme du macrophage s'était séparé à partir de celui de la région nucléaire du fibrocyte.

Il est probable que la figure 3, planche XXIX, dont on a fait état à propos des lipines (p. 486), représente un stade voisin de celui dont il vient d'être question (Pl. XXIII, stade 4); ici, le macrophage est déjà complètement arrondi et ne semble plus relié au fibrocyte, mais les deux éléments sont encore accolés. Dans les stades ultérieurs, les cellules néoformées quittent les fibrocytes-souches, se multiplient à l'état de macrophages

arrondis à membrane ondulante ou de cellules allongées plus ou moins ramifiées.

2. — LE CYTOPLASME ET L'APPARITION DES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES.

Les stades qui viennent d'être analysés traduisent des modifications profondes, non seulement de la structure, mais aussi des fonctions du cytoplasme, lors de la formation des cellules du type histiocyte par les fibrocytes.

Des techniques particulières montrent que l'ébauche du cytoplasme de la jeune cellule de même que l'endoplasme du fibrocyte-souche sont imprégnés de lipines colorées en bleu noir par l'hématoxyline de KULTSCHITZKY, après postchromisation, et mis en évidence, dans les mêmes conditions, par le soudan III. Ces lipines sont très vraisemblablement des lécithines qui se teignent en bistre par action de l'acide osmique et brunissent, secondairement, dans l'alcool à 70°. Les boules de graisses deviennent noires sous l'influence de l'acide osmique. Les plis de la membrane ondulante donnent les mêmes réactions que les boules lipiniques, ce qui pourrait indiquer qu'il y a condensation de lipines à l'endroit où la membrane ondulante se plisse. Le cytoplasme des cellules histiocytaires naissantes prend une teinte vert jaune après postcuprification dans l'acétate de cuivre ; l'endoplasme des fibrocytes-souches fait de même, en plus faible. Ces formations retiennent aussi la coloration de GRAM, plus ou moins fortement. Il est possible que l'endoplasme des jeunes cellules contienne une certaine quantité d'acides gras. Le carmin de BEST colore en rouge, d'une manière diffuse en général, l'endoplasme des fibrocytes en transformation et, d'une façon intense, les cellules en développement, que cette coloration soit due à une accumulation du glycogène ou à la condensation des lipines ; cependant, le traitement à la gomme iodée décèle en brun des granules endoplasmiques, nombreux chez les cellules néoformées, moins abondants chez les fibrocytes.

Lorsque ceux-ci donnent naissance à des cellules du type histiocyte par division (mode II), on observe que l'élément en formation sur le fibrocyte se colore vitalement, avec une extrême rapidité, par le rouge neutre qu'il accumule bientôt dans tout son endoplasme ; le fibrocyte-souche n'est coloré lui-même que dans quelques vacuoles assez fines, dispersées dans l'endoplasme, mais plus nombreuses cependant que celles

qui représentent le vacuome normal. Le trypano-bleu, dilué en solution physiologique, est plus ou moins accumulé dans l'endoplasme des fibrocytes des cultures en transformation

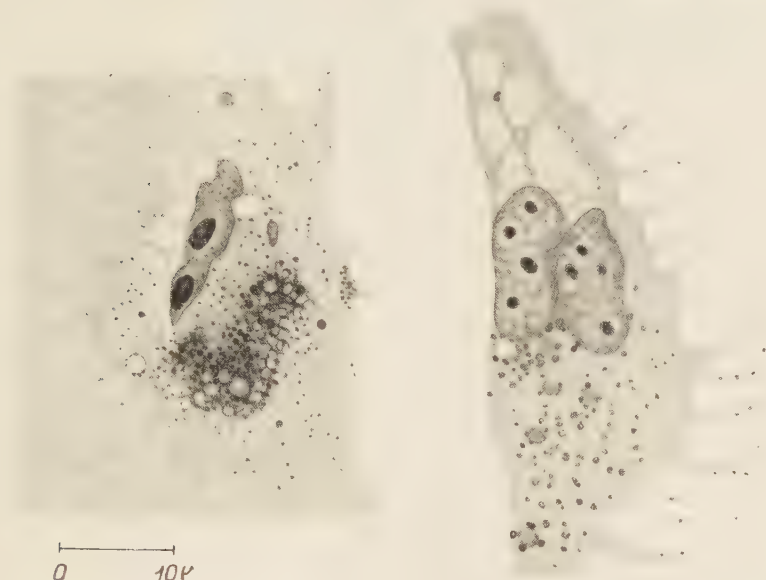


Fig. 29. — Accumulation du trypano-bleu (à 1 p. 100 dans le liquide de RINGER), par deux fibrocytes étalés, issus du cœur.

Culture subissant la transformation spontanée en cellules du type histiocyte (e. e. 10 p. 100 : 1 g., 3^e jour). Fix. : NAVACHINE. Color. : hémato. ferrique de HEIDENHAIN, éosine-aurantia-orange. Reproduction d'un dessin en couleurs.

(fig. 29); il l'est très fortement par les jeunes éléments du type histiocyte ; ce fait n'a pas lieu, en général, chez les fibrocytes dans les conditions habituelles. L'encre de Chine, diluée en solution physiologique, est captée fortement, surtout par l'ébauche de la cellule histiocyttaire sur le fibrocyte ; celui-ci, cependant, peut faire preuve d'une certaine activité phagocytaire à l'égard de grains de vitellus ajoutés aux cultures, par exemple, ou de grosses particules. *Tout se passe comme si les propriétés chromopexiques et colloïdopexiques apparaissaient localisées, principalement, dans l'ébauche de la jeune cellule en développement sur la cellule-mère.*

D'autres résultats des épreuves physiologiques doivent être attribués, très vraisemblablement, aux stades de la transformation des fibrocytes en autant de cellules histiocyttaires,

sans qu'il y ait de multiplication (mode I). Dans ce cas, les fibrocytes prennent très rapidement le rouge neutre, sous forme de granules nombreux, qui donnent des figures d'accumulation remplissant à peu près tout l'endoplasme ; de même, ils phagocytent et amassent l'encre de Chine.

CHAPITRE IV

Les cellules du type histiocyte issues des fibrocytes.

Les cellules du type histiocyte néoformées, ou proliférant dans les cultures secondaires, conservent les caractères acquis. Leurs colonies sont analogues à celles des éléments histiocytaires d'une autre origine : monocytes, mésenchyme ou cellules vitellines (2^e partie, chap. III). Nous allons préciser leur aspect, leur structure et leurs propriétés.

1. — L'ÉTAT VIVANT.

L'ensemble des observations effectuées conduit à distinguer trois aspects réversibles : celui du macrophage arrondi, de la cellule très allongée et très ramifiée et, comme terme principal de passage entre ces deux états, du macrophage faiblement allongé ou ramifié.

Suivons, à l'état vivant, la variation de la forme d'une cellule de chacune de ces trois catégories, dessinée toutes les dix minutes.

Le macrophage (fig. 30, à droite ; Pl. XXIV, 3), entouré d'une large membrane ondulante dont les plis ressemblent à des flagelles variant continuellement, reste en général arrondi ; les mouvements de la membrane et, en partie, l'amiboïsme cytoplasmique, provoquent la locomotion.

La cellule émet un prolongement à son extrémité postérieure (fig. 30, au milieu et Pl. XXIV, 5), reste plus ou moins arrondie, avec une membrane ondulante ne persistant généralement qu'à l'extrémité antérieure ; elle devient aussi allongée, ou faiblement ramifiée, avec quelques expansions assez courtes. L'étirement est souvent en rapport avec la progression de l'élément, qui reprend ensuite son allure primitive.

Enfin, la cellule demeure très allongée ou très ramifiée. Les prolongements se déforment constamment et changent de disposition (fig. 30, à gauche — on a choisi un élément peu ramifié — et Pl. XXI, 3 à 5) ;

ils semblent près de se rompre, mais il n'en est jamais rien ; ils sont pourvus, à leur extrémité libre, d'un voile hyaloplasmique qui apparaît quelquefois, cependant, en bordure des prolongements.



Fig. 30. — Évolution de trois cellules différentes du type histiocyte, provenant de la transformation spontanée des fibrocytes de deux cultures de cœur.

A droite : la forme du macrophage arrondi entouré d'une membrane ondulante. A gauche : celle de l'histiocyte ramifié (on a choisi une cellule qui l'est peu). Au centre : la forme intermédiaire principale entre les deux précédentes : type histiocyte actif, pouvant se déplacer par étirement. (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces). Stades dessinés à 38°, à la chambre claire, toutes les dix minutes.

2. — LA STRUCTURE CYTOLOGIQUE.

Les caractères cytologiques généraux des cellules du type histiocyte issues des fibrocytes, sous les trois états qui viennent d'être signalés, sont analogues ; le macrophage sert de type de description, car les deux autres cellules peuvent être considérées comme des macrophages plus ou moins déformés par allongement, étranglement et ramification.

Le macrophage (Pl. XXII, 2 et XX, XXIII, 4, XXIX, 3) est

arrondi ; il comprend un noyau, un endoplasme et un exoplasme développé en membrane ondulante. Le noyau, lui-même globuleux ou ovale, est en général excentré, à membrane bien colorée par l'hématoxyline ; la chromatine, qui était dispersée, au moment de la transformation cellulaire, se condense ensuite en une ou deux petites masses centrales et en quelques fines granulations éparses ; le fond du noyau est acidophile, parfois basophile, ou acidophile avec un granité faiblement basophile, bien mis en évidence par fixation au liquide de FLEMING et coloration à la safranine vert lumière. Le mode de multiplication, lorsque la cellule prend le type faiblement allongé ou ramifié, est la caryocinèse.

L'endoplasme comprend une région centrale arrondie, dense, granuleuse, basophile, mais beaucoup moins chargée de lipines qu'au moment de la transformation ; c'est dans cette zone qu'apparaît la centrosphère, lors de la mitose. Les constituants cytoplasmiques et les enclaves de graisses sont localisés principalement à la périphérie de l'endoplasme. Le rouge neutre colore vitale-ment de petites vacuoles non polarisées situées dans celui-ci et autour du noyau. Les chondriocentes sont en général dispersés autour de la zone centrale ; ils peuvent être assez nombreux, dans de bonnes conditions techniques, mais tendent souvent à se morceler en chondriomites. Il arrive qu'on aperçoive, parmi les boules de graisses dissoutes par les réactifs, quelques enclaves laissant un résidu légèrement colorable : il s'agit peut-être, dans ce cas, de particules phagocytées, en train d'être digérées.

La membrane ondulante est un large voile hyaloplasmique périphérique, dont les plis retiennent fortement l'hématoxyline au fer ; ils existent au bord de la membrane, mais se projettent aussi sur l'endoplasme ou le noyau.

3. — LES PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES.

Les macrophages accumulent fortement les colorants vitaux basiques ou acides, dilués en solution physiologique. Le rouge neutre provoque rapidement, après la coloration vitale proprement dite, l'apparition de vacuoles rouges néoformées

qui se condensent et occupent la plus grande partie de l'endoplasme. Le trypano-bleu y est accumulé d'une façon très intense ; l'encre de Chine, captée par ultra-phagocytose, s'amasse en granules noirs nombreux qui s'y groupent ; les particules libres, assez volumineuses, sont activement englobées.

Du vitellus, dilué à parties égales avec du liquide de TYRRODE et ajouté aux cultures, est aussi phagocyté ; les grains de vitellus sont observés dans l'endoplasme puis décelés par coloration à l'hématoxyline. Les macrophages paraissent les digérer assez rapidement : sept heures après l'addition du deutoplasme à une culture, en milieu liquide, par exemple, les grains phagocytés sont colorables par le rouge neutre ; dans les mêmes conditions, ceux captés par les fibrocytes en transformation ne prennent pas encore cette coloration.

Les cellules du type histiocyte résultant des fibrocytes font preuve d'un pouvoir protéolytique plus ou moins intense. Nous avons vu que, peu après leur formation, elles liquéfient vraisemblablement autour d'elles une petite zone du coagulum de fibrine. Les macrophages laissés plusieurs jours dans le plasma solide où ils ont émigré individuellement creusent, parfois, chacun une logette arrondie.

Les éléments histiocytaires ne supportent pas longtemps la présence d'extrait d'embryon à 30 p. 100, mais ils se multiplient abondamment, par contre, dans le plasma hépariné ou dans le sérum ; ils ont acquis la faculté — non dévolue aux fibrocytes — de se nourrir directement des protéines du sérum.

Nous avons déjà eu l'occasion de remarquer que les cellules transformées adoptent, dès leur apparition, soit la forme du macrophage arrondi, soit celle du macrophage allongé ou faiblement ramifié et qu'elles existent concurremment dans une même culture, avec d'autres très allongées ou très ramifiées. La concentration de l'extrait embryonnaire, mélangé au plasma, n'a pas, semble-t-il, une influence directe et décisive, dans certaines limites, sur le déterminisme de la forme adoptée ; des facteurs cellulaires propres, liés à l'état d'activité physiologique, entrent en jeu (p. 532).

Enfin, on n'observe jamais de stades démontrant la sécrétion d'un produit figuré, dans l'endoplasme des macrophages néoformés, lorsqu'ils ont été conservés plusieurs jours après que leur multiplication a cessé. Des signes de dégénérescence,

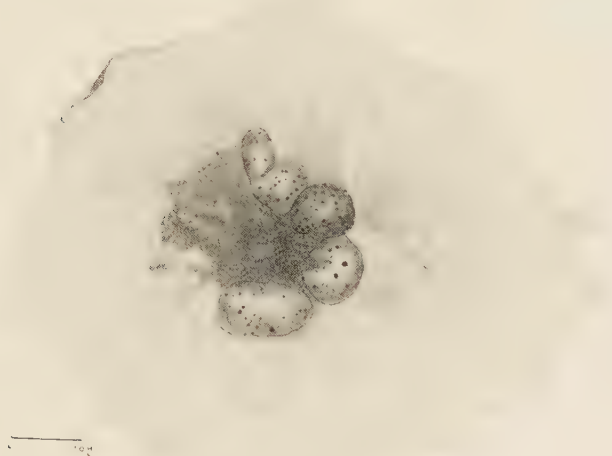


Fig. 31. — Macrophage arrondi, à membrane ondulante étalée, provenant de la transformation spontanée d'un fibrocyte dans une culture de cœur en vie active.

Bourgeonnement dégénératif du noyau. Absence de grains de sécrétion basophiles. (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g., 12^e jour). Fix. : formol neutre 10 p. 100. — RINGER. Color. : hémato. de MINCK.

comme la pullulation endoamitotique ou le bourgeonnement des noyaux (fig. 31), apparaissent, sans que la zone endoplasmique centrale ait fait preuve de capacités élaboratrices.

Discussion de la troisième partie.

La transformation spontanée en éléments du type histiocyte des fibrocytes issus du cœur a été suivie. Les cellules néoformées sont caractérisées par leur structure et celle de leurs colonies, et par leurs fonctions (chromopexie, colloïdopexie, phagocytose, nutrition par les protéines du sérum). Elles prennent l'aspect du macrophage arrondi entouré d'une large membrane ondulante, du macrophage faiblement allongé ou ramifié, de la cellule très allongée ou très ramifiée ; la signification physiolo-

gique de ces types cellulaires réversibles sera précisée ultérieurement (4^e partie).

Il arrive que des fibrocytes, en cours de transformation, constituent de volumineux plasmodes en remaniement constant, d'où se libèrent plusieurs cellules histiocytaires ; qu'ils continuent à se transformer dans les cultures secondaires ou en régénération.

Nous avons été conduits à distinguer deux procédés de formation. *Dans le mode I, un fibrocyte se mue en une seule cellule du type histiocyte, sans qu'il y ait eu multiplication cellulaire. Les variations structurale et fonctionnelle s'établissent progressivement ; on peut donc considérer qu'il existe, dans ce cas, des états intermédiaires entre le fibrocyte et la cellule histiocytaire (Pl. XVIII, 4). Dans le mode II, plus général, un fibrocyte se transforme totalement, en quelques jours, en une série d'éléments histiocytaires, à la suite de multiplications renouvelées qui ne sont pas des caryocinèses. Il ne semble pas qu'on puisse distinguer, cette fois, d'état intermédiaire entre les deux cellules, car tout se passe comme si les variations étaient localisées, surtout à l'ébauche de la cellule histiocytaire.*

Un fibrocyte, en train d'engendrer spontanément une série d'éléments du type histiocyte, présente des alternances d'activité et de repos. Les phases dynamiques se traduisent par l'apparition de lobopodes, de lobes cytoplasmiques et par la création de cellules transformées ; dans les périodes d'apparence statique, le fibrocyte n'émet même plus de lobopodes, pendant quelques heures (cinq au moins, par exemple).

Les cellules néoformées par le fibrocyte (mode II) résultent d'une division directe particulière. L'évolution générale de celle-ci a été suivie longuement à l'état vivant (p. 466) ; dans le cadre constitué de la sorte et qui a déjà fourni les éléments d'une interprétation globale (p. 470) sont venus s'insérer, en ordre logique et accord complet, tous les détails fournis par l'analyse de la série des stades conservés par la fixation et les colorations cytologiques (p. 483) (comparer fig. 24, Pl. XIX, 1, XXIV, 3, avec Pl. XX et XXIII).

Un lobe se dessine et persiste sur le fibrocyte, le plus souvent à la région moyenne de la face tournée vers la profon-

deur du coagulum. Il se projette sur le fibrocyte (d'où la difficulté des observations) et représente une cellule du type histiocyte en cours de développement. Celle-ci peut être libérée en moins de quarante minutes, par exemple. Le noyau de l'élément histiocytaire provient, par division directe, d'une partie du noyau du fibrocyte-souche, spécialement dans la région d'un plasmosome devenu globuleux, supportant la plus grande quantité de la chromatine condensée et intensément basophile. Le cytoplasme de la jeune cellule résulte d'une portion de celui de la mère, laquelle s'individualise, puis se divise en un lobe entourant le petit noyau, au-dessus du noyau-souche et de la région juxta-nucléaire. Le chondriome s'est d'abord groupé autour du noyau du fibrocyte, l'endoplasme s'est chargé très fortement de lipines ; le lobe est lui-même le plus riche en lipines diffuses ou condensées. Après la division directe du noyau et du cytoplasme, la jeune cellule définitivement transformée glisse à la surface du fibrocyte, puis émigre [comparer spécialement : le stade 18 (fig. 24), la région médiane du tractus (Pl. XXIV, 3) et le stade 4 (Pl. XXIII)].

On remarquera que le mode de multiplication employé par les fibrocytes, lors de leur passage à l'état d'histiocyte, présente des analogies profondes avec celui qu'utilisent les cellules vitellines (p. 432) et qui a été nommé *méroamitose* (1935).

Nous y reviendrons, de même que sur le problème physiologique de la transformation, étudié dans la quatrième partie de ce travail.

CONCLUSIONS DE LA TROISIÈME PARTIE

1° *L'observation de la transformation spontanée des fibrocytes issus du cœur en cellules du type histiocyte a pu être suivie à l'état vivant et analysée par les techniques cytologiques. Ce phénomène survient selon deux procédés.*

2° *Dans le mode I, un fibrocyte passe à l'état d'histiocyte sans qu'il y ait multiplication cellulaire, par suite d'une variation progressive de sa structure et de ses fonctions : on trouve donc, dans ce cas, des stades intermédiaires entre les deux sortes d'éléments.*

3° Le mode II est le plus fréquent ; il consiste en une multiplication analogue à celle décrite chez la cellule vitelline (p. 455, n° 2). Un fibrocyte donne naissance, à un rythme plus ou moins rapide — pendant quelques jours par exemple — à plusieurs histiocytes, au cours de périodes d'activité se traduisant surtout par l'émission de lobopodes nombreux (1934). Le phénomène se poursuit jusqu'à la transformation totale du fibrocyte. Une cellule-fille peut être créée en moins de quarante minutes. Son noyau arrondi provient de la division directe d'une partie de celui du fibrocyte, intéressant principalement le nucléole plasmatique recouvert de chromatine et devenu globuleux. Son cytoplasme résulte de la séparation consécutive d'un lobe de celui de la cellule-mère, individualisé autour du noyau naissant. Le chondriome se groupe tout d'abord dans l'endoplasme de l'élément générateur. Il y a ensuite apparition d'une forte quantité de lipines, surtout dans l'ébauche de la jeune cellule, à laquelle semblent localisées les propriétés physiologiques nouvelles.

4° Les cellules histiocytaires néoformées prolifèrent abondamment par caryocinèse, constituent des îlots isogéniques, puis envahissent le coagulum nutritif ; elles peuvent y former de gros agglutinats. Elles gardent leurs propriétés dans les cultures secondaires pures. Leurs caractéristiques de forme, de comportement et de fonctions sont analogues à celles des éléments histiocytaires vitellins (p. 456, n° 4). Elles n'élaborent pas un produit de sécrétion figuré, lorsqu'elles sont en multiplication ralentie.

5° Il arrive que les cellules histiocytaires constituent des plasmodes d'assez grande taille lors de leur formation par les fibrocytes. L'observation prolongée à l'état vivant montre la fusion vraie des cellules ; le cheminement des boules de graisses indique la continuité du cytoplasme ; celui-ci se répartit en lobes dont le nombre, la taille et la disposition varient fréquemment ; toutefois, les éléments histiocytaires finissent par se séparer et émigrer. Le passage à l'état d'histiocyte continue à se produire dans les cultures de fibrocytes en régénération.

QUATRIÈME PARTIE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA MULTIPLICATION, DE LA TRANSFORMATION ET DE LA SPÉCIFICITÉ DES CELLULES

Dans les trois parties précédentes, des résultats cytologiques et physiologiques ont été exposés sur la multiplication et les transformations de deux variétés de tissus très différents : l'épithélium vitellin, qui est entoblastique, et les fibrocytes mésoblastiques issus du cœur. Plusieurs données concernant le cytoplasme ont été discutées. Il nous reste à examiner les phénomènes particuliers de multiplication mis en évidence, à chercher à les situer parmi les faits connus : ont-ils un caractère de généralité, assurent-ils la persistance de la spécificité cellulaire ?

Après avoir analysé les mécanismes communs aux cellules lorsqu'elles passent spontanément à l'état de macrophages et en avoir dégagé la signification, nous chercherons dans quelle mesure les faits acquis par une étude sur cette transformation provoquée sont théoriquement applicables à la physiologie du système histiocytaire.

Nous terminerons par quelques considérations générales sur l'individualité, la variation et la spécificité des cellules.

CHAPITRE PREMIER

Les modes de multiplication cellulaire et la persistance de la spécificité.

1. — RAPPEL DES MODES DE MULTIPLICATION OBSERVÉS.

Les cellules vitellines, dans les colonies épithéliales, se multiplient initialement par mitose, mais ce processus est en général peu fréquent. Ensuite, tandis que les enclaves de vitellus sont digérées dans le cytoplasme, la caryocinèse n'apparaît plus : la reproduction est amitotique. Il y a soit division du noyau en deux parties plus ou moins égales (endoamitose), suivie ultérieurement d'une plasmodiérèse, soit, principalement, formation de petits noyaux, puis de petites cellules, comme nous l'avons vu précédemment. Enfin, lorsque le deutoplasme est en grande partie, puis complètement, passé à l'état de glycérides, le mode utilisé par les cellules vitellines qui prennent le type fibrocyte est, à nouveau, la caryocinèse.

Quand les cellules vitellines des colonies épithéliales, ou les fibrocytes issus du cœur se transforment en macrophages, le mode employé est amitotique ; il est de même ordre que celui observé chez la cellule vitelline formant de petits noyaux et de petits éléments.

Ces constatations analogues chez des cellules si dissimilaires ont amené, une fois toutes les vérifications achevées (p. 315, 432, 496), à individualiser un processus particulier de multiplication cellulaire directe : la *méroamitose* (1935).

2. — LA MÉROAMITOSE.

On peut systématiser, sous le nom de *méroamitose* (de *μέρος* : partie, et de *amitose* : α privatif et *μίτρος* : filament) une variété de multiplication directe portant seulement sur une faible partie du noyau et du cytoplasme d'une cellule-mère. On ne distingue pas de centrosome pendant ce phénomène. Deux modalités doivent être distinguées.

A. — *Méroamitose multiplicatrice.*

Elle est observée chez les cellules vitellines en culture, dans la deuxième phase de l'accroissement des colonies. Le schéma en est indiqué (fig. 32, de 1 à 5). Une partie du gros noyau d'une cellule vitelline mère s'individualise et constitue une hernie latérale ; l'extrémité du plasmosome supportant une portion de la chromatine s'y engage (stade 1). La hernie, avec l'extrémité du nucléole plasmatique qu'elle contient, s'étrangle et se sépare sous forme d'un petit noyau arrondi, renfermant peu de chromatine (stade 2). Il s'agit d'une *méroca-ryodiérèse* qui peut durer trente minutes, ou plus longtemps, mais est précédée de phénomènes préparatoires (essais de développement de la hernie, division du plasmosome). Le petit noyau chemine dans l'endoplasme et s'accroît quelque peu (stade 3). Lorsque survient une division plus ou moins tardive d'une partie du cytoplasme-souche le contenant (*méroplasmodiérèse*), une jeune cellule semblable à la mère est individualisée (stades 4 et 5) ; elle s'accroît à son tour. Avant que cette division ne soit effectuée, le gros noyau peut commencer à en former à nouveau un petit, encore par hernie latérale, ou sous l'aspect d'une calotte superficielle se séparant avec une partie du gros nucléole plasmatique ou d'un autre de moindre taille (stades 4 et 5).

B. — *Méroamitose transformatrice.*

Elle est suivie, chez les cellules vitellines, lorsque les colonies épithéliales en flacon ont, en général, achevé leur crois-

sance et donnent naissance spontanément à une série de macrophages. Le schéma (fig. 32, 1*t* à 3*t*) est établi d'après les dessins des cellules vitellines évoluant à l'état vivant (p. 426), complétés par ceux des préparations colorées (Pl. XIV).

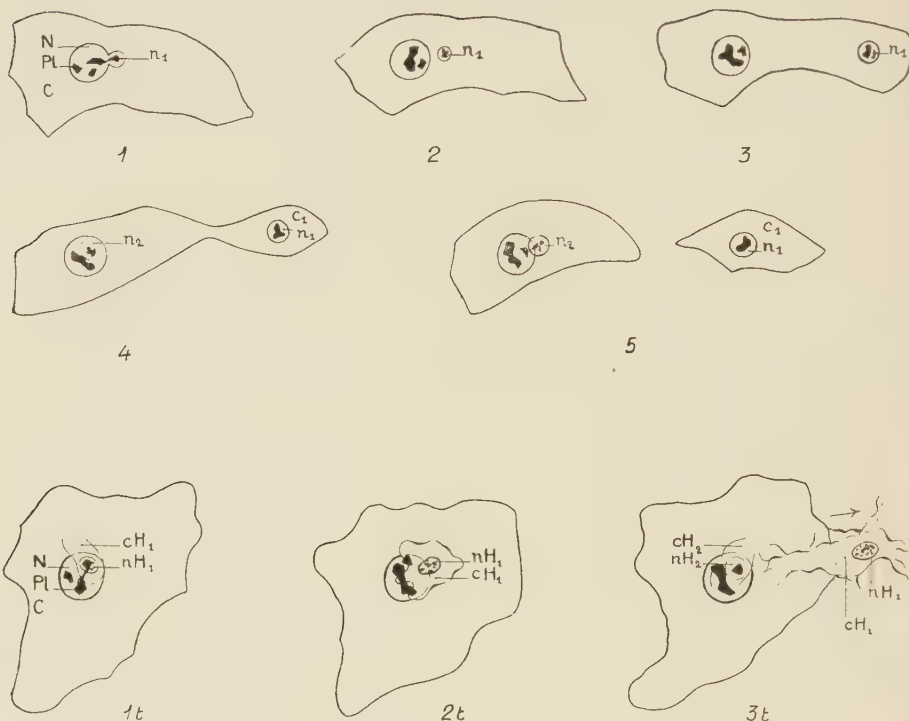


Fig. 32. — Schéma de la méroamitose.

De 1 à 5 : multiplication de la cellule vitelline épithéliale (méroamitose multiplicatrice). De 1*t* à 3*t* : formation des cellules du type histiocyte par la cellule vitelline épithéliale (méroamitose transformatrice), valable pour la formation des cellules histiocytaires par les fibrocytes. *N*, noyau ; *Pl*, plasmosome supportant la chromatine ; *C*, cytoplasme, *n*₁ et *n*₂ un premier et un deuxième petit noyau (formés par *N*, soit par hernie latérale, soit par calotte superficielle), *c*₁, cytoplasme de la cellule-fille (après une plasmodiérèse plus ou moins tardive) ; *nH*₁, *cH*₁, *nH*₂, *cH*₂, le noyau et le cytoplasme d'une première et d'une deuxième cellule du type histiocyte (dans ce cas, la méroplasmodiérèse suit la mérocarodiérèse).

Il s'applique, sans modifications autres que de détails, à la création de macrophages par les fibrocytes issus du cœur (mode II, p. 469 et Pl. XXIII). Le mécanisme est voisin de celui de la méroamitose multiplicatrice, mais les cellules-filles sont transformées par rapport à la mère, d'où le qualificatif de : transformatrice. Cette fois, la division d'une partie du cytoplasme accompagne celle d'une portion du noyau (stade 1*t*).

Aussitôt libéré (stade 2*t*), le jeune élément commence à émigrer avec ses caractères nouveaux (stade 3*t*) : la variation devient apparente pendant la méroamitose. La cellule-mère recommence à créer une cellule-fille (stade 3*t*), et ainsi de suite pendant quelques jours jusqu'à sa disparition totale. Ces éléments libres, du type histiocyte, sont parfois formés en trente minutes par les cellules vitellines.

3. — DISCUSSION.

A. — *Sur la multiplication directe.*

L'amitose est un mode de multiplication qui est retrouvé dans tous les groupes zoologiques ; il semble être soit un processus habituel de prolifération, soit un mécanisme apparaissant seulement dans quelques circonstances, régénération ou incitations diverses, soit enfin un signe de dégénérescence. Nous ne discuterons que quelques points.

Il faut reconnaître que l'amitose a été trop souvent décrite sur le matériel fixé. GRYNFELTT (1935) est d'avis que cette observation difficile peut néanmoins être faite à l'aide de certaines colorations. Cependant, alors que la multiplication indirecte se reconnaît, le plus souvent, à l'existence d'un quelconque de ses stades, une image d'étranglement ou d'étiement, chez une cellule morte, est, à elle seule, rarement capable de prouver qu'il s'agit d'une amitose. Chez la cellule vitelline, dont le gros noyau est très déformable, on observe des stades qui font croire à l'amitose et qui, cependant, n'aboutissent pas à une division. De même, les images d'accolement des noyaux peuvent être l'objet de fausses interprétations. Ceci explique que la division directe soit, en général, tombée en un discrédit que la faveur acquise par les théories chromosomiques — qui, cependant, dépassent parfois le cadre des faits bien établis de la génétique — contribue à répandre. Il est rigoureusement nécessaire de se donner la peine, en se plaçant dans les conditions requises, d'en poursuivre, à l'état vivant, l'observation complète jusqu'à la séparation des deux cellules. On acquiert ainsi une certitude et on évite de porter

au compte de l'amitose des phénomènes comme la pullulation endoamitotique dégénérative et la fragmentation nucléaire. Cette dernière est fréquente, elle est souvent pathologique ; elle survient cependant constamment dans quelques tissus en bon état physiologique apparent, embryonnaires ou adultes.

ARNOLD (1883) interprète la fragmentation nucléaire (qu'il classe en directe et indirecte) comme un mode de multiplication des cellules géantes de la moelle osseuse. On trouve dans celles-ci, à la périphérie ou au centre, de jeunes cellules. « Leur disposition et la ressemblance de leur constitution indiquent qu'elles proviennent de la cellule géante par le clivage du cytoplasme autour des noyaux qui s'étaient séparés du grand noyau. » La fragmentation indirecte d'ARNOLD a été considérée comme dégénérative, ou produite par des altérations *post mortem*. Le processus n'a pas été suivi à l'état vivant ; l'examen des dessins d'ARNOLD semble indiquer, en effet, que plusieurs cellules sont en dégénérescence manifeste (1).

MAXIMOW (1908) considère comme tout à fait normal, chez les cellules mésenchymateuses de l'embryon du Lapin, l'étranglement de petits bourgeons nucléaires, mais pense que de tels petits noyaux, surtout lorsqu'ils sont nombreux, sont voués à la dégénérescence. GUIEYSSE-PELLISSIER (1913, 1926) voit se résoudre en nombreuses petites masses nucléaires les noyaux monstrueux de l'épithélium intestinal de la Roussette et d'autres tissus ; la fragmentation du noyau n'entraîne pas la division de la cellule. Des phénomènes analogues sont signalés par d'autres travailleurs. Pour A. BENNINGHOFF (1923), qui cite quelques observations antérieures aux siennes, la séparation de parties d'un noyau n'est pas un signe du début de l'involution. BRACALONI (1931) décrit le bourgeonnement du noyau d'éléments macrophages, non lié à la multiplication. D'après S. JENTSCH (1935), la fragmentation nucléaire vraie et le clivage amitotique dans l'ectoblaste et le mésothélium amniotique, chez *Melopsitacus*, de même que dans les cellules mésoblastiques qui immigrent dans l'amnios, paraissent fournir des noyaux-fils viables, tandis que le morcellement et le bourgeonnement des noyaux géants sont dégénératifs.

La multiplication directe chez les cellules saines cultivées donne lieu à des controverses. Des auteurs, tels : LAMBERT (1913), RUMJANTZEW (1928), nient l'amitose ou la rapportent à une fragmentation dégénérative. D'autres, comme KREIBISCH (1914), FOOT (1912) (dans la moelle osseuse,

(1) Si certains stades dessinés n'étaient pas le fruit d'un artéfact (superposition de cellules, phagocytose, émigration temporaire d'un petit élément dans un plus grand, etc...), ils ne se rapporteraient probablement pas à la méroamitose multiplicatrice ; ils ressembleraient plus à l'endocytogenèse. Toutefois, W. KOMOKI (1932) pense confirmer l'hypothèse d'ARNOLD (Voir plus loin).

mais — de même que MAXIMOW — pas chez les fibrocytes), CHAMPY (1920), CHLOPIN (1922), POLICARD (1925), DE HAAN (1928), FISCHER (1931), M. VON MÖLLENDORFF (1929), etc., concluent à la multiplication directe de cellules épithéliales ou d'origine conjonctive, mais, le plus souvent, de l'examen des préparations colorées. La plupart des chercheurs observent la division du noyau, non suivie par celle du cytoplasme (HOLMES, 1914; LEWIS et WEBSTER, 1921; LYNCH, 1921; BARTA, 1926; MACKLIN, 1927; CAFFIER, 1928; KAPEL, 1929; FISCHER, 1930; CHLOPIN, 1931; PARKER 1932; WEATHERFORD, 1933; VAUBEL, 1933; SPADAFINA, 1933; ZWEIBAUM et SZEJNMAN, 1935; WINNIKOW, 1936; I. FISCHER et RIES (1936) (1) et beaucoup d'autres). Plusieurs y voient un phénomène d'involution. RUMJANTZEW (1928) n'a jamais constaté d'amitoses complètes, *in vivo*. LEVI (1934) déclare que ni lui, ni ses collaborateurs n'ont vu la plasmodiérèse après l'amitose nucléaire. Les deux noyaux d'une même cellule peuvent fusionner secondairement (LEWIS et LEWIS). La binucléose (2), fréquente *in vivo*, normalement ou à la suite de l'expérimentation, est obtenue, *in vitro*, par l'action du froid (BUCCIANTE, 1928), ou — de même que la polynucléose et la formation consécutive de cellules géantes — par un certain degré d'asphyxie (BARTA, 1925), par des conditions défavorables de milieu, des irritations, comme l'ont vu beaucoup d'auteurs. Les facteurs provoquant la formation des cellules binucléées influent directement ou indirectement sur l'augmentation de la viscosité du cytoplasme (ZWEIBAUM et SZEJNMAN, 1935). Toutefois les cellules géantes résultent aussi de la fusion d'éléments primitivement séparés. STRANGWAYS (1924) observe qu'après rapprochement des deux parties d'une cellule binucléée une portion anucléée de cytoplasme est éliminée. Il peut en être de même (clasmatose vitelline) lorsque les cellules entoblastiques sont très chargées d'enclaves et contiennent plusieurs noyaux, ou que l'un de ceux-ci dégénère.

Les processus amitotiques sont fréquents chez les cellules âgées ou soumises à une action irritante ; on y trouve de même des images de fragmentation nucléaire, pouvant aboutir à la formation de petits noyaux. Celles-ci ont été observées fréquemment ; il est probable qu'elles doivent être attribuées à la dégénérescence (MAXIMOW, 1908; MACKLIN, 1916; W. LEWIS, 1922; BENNINGHOFF, 1923; BARTA, 1925; TANNENBERG, 1929; FISCHER et DOLJANSKI, 1929; FISCHER, 1930; CHLOPIN, 1931, ainsi que ses élèves; M. VON MÖLLENDORFF, 1931; CHLOPKOW, 1931 ;

(1) D'après I. FISCHER et RIES (1936), la possibilité de cultiver la cellule pancréatique exocrine diminue au cours du développement ontogénique ; elle cesse quand la multiplication mitotique s'arrête, 10 à 14 jours après l'éclosion du poussin, et lorsque commence la période d'accroissement des cellules et de division amitotique.

(2) Plusieurs auteurs ont vu également la binucléose survenir à la suite d'une division indirecte du noyau, non suivie de celle du cytoplasme.

pour qui les petits noyaux peuvent atteindre la taille du noyau originel : KOKOTT, 1931 ; SPADAFINA, 1933 ; VAUBEL, 1933 ; ZWEIBAUM et SZEJNMAN, 1935 ; WINNIKOW, 1936, etc...).

En somme, si la division directe du noyau est fréquente, il semble qu'elle soit rarement suivie de celle du cytoplasme chez les fibrocytes en culture, lorsqu'ils sont en multiplication active en goutte pendante. Il faut cependant se garder, comme font beaucoup d'auteurs, de nier un phénomène, en général, à la suite d'une conclusion particulière. *L'amitose ne peut être assimilée à la fragmentation nucléaire ; elle est loin d'être exceptionnelle chez les cellules épithéliales cultivées ; elle est souvent fréquente dans les divers tissus de l'organisme.* Qu'il suffise de rappeler, parmi de nombreux travaux généraux, ceux de protistologues (E. CHATTON, 1910, etc...), de zoologistes (C. M. CHILD, 1907 ; N.-J. BERRIL, 1935, etc...) (1), d'histologistes (2) : multiplication dans les tissus cartilagineux, osseux, dans certaines parties des annexes fœtales et de la muqueuse utérine, dans le muscle (HEIDENHAIN, 1919 ; JACOBJ, 1925, etc...), formation de lymphocytes (DE HAAN, 1928, etc...) ; enfin le rôle que lui attribuent WASSERMANN (1929), qui pense que les « amitoses réactives » (BENNINGHOFF) des cellules glandulaires pourraient être des amitoses de division (COLLIN, 1930, voir p. 412 et p. 541), GRYNFELTT (1935), etc... W. et M. VON MÖLLENDORFF (1926, etc.) lui confèrent une importance générale dans le syncytium fibrocytaire conjonctif, de même RUBASCHKIN et BESUGLAJA (1932) dans les symplastes. Les remaniements du système neuro-végétatif central résultent, en partie, d'amitoses nucléaires généralement inégales, souvent « par bourgeonnement », pouvant entraîner une multiplication de remplacement (G. ROUSSY et M. MOSINGER, 1935, 1936).

Les controverses proviennent du fait que la distinction

(1) Le rôle de l'amitose est très net dans l'accroissement et l'entretien de plusieurs organes subissant une usure considérable, chez les Aranéides (tubes de *Malpighi*, tissu interstitiel...); on n'y observe jamais de caryocinèses (J. MILLOT, 1926).

(2) L'amitose et la fragmentation nucléaire existent chez les végétaux supérieurs, mais paraissent plus rares que chez les animaux.

entre la division directe physiologique et les processus réactionnels et dégénératifs qui lui ressemblent n'est pas faite clairement (1). L'amitose n'est pas seulement une réaction régularisant, par l'agrandissement de la surface nucléaire, un déséquilibre dans les rapports métaboliques entre le noyau et le cytoplasme (BENNINGHOFF, 1922, suivi par beaucoup d'autres, récemment encore CHALETZKAJA, 1935, etc...) (2); *elle est aussi un mode de multiplication physiologique*, comme WASSERMANN (1929) le précise, ainsi que de nombreux histologistes. Il ne s'ensuit pas, toutefois, que ce procédé ne soit le résultat d'une incitation physiologique particulière; nous y reviendrons.

Des traitements expérimentaux, provoquant un certain degré de dégénérescence des cellules, font apparaître des altérations nucléaires, notamment la fragmentation. Il semble qu'il en a été souvent ainsi, lorsque des travailleurs ont cherché à provoquer la transformation des fibrocytes en macrophages (Voir p. 457): ce phénomène n'est pas le fruit de la fragmentation du noyau. Des auteurs, depuis les recherches de W. et M. VON MÖLLENDORFF (1926), ont signalé, parfois, des amitoses dans les cultures de fibrocytes donnant origine aux cellules histiocytaïres: cette évolution ne s'effectue pas à la suite du processus classique, mais de la méroamitose transformatrice.

Nous allons choisir, maintenant, quelques faits parmi ceux qui pourraient être rapprochés ou qui relèvent vraisemblablement de la méroamitose, soit multiplicatrice, soit transformatrice, et les discuter.

WACLAW BERENT (1896) étudie les noyaux dans le sac périblastique des Téléostéens: « Enfin, écrit-il, il y a un troisième mode de division qui ressemble à une sorte de bourgeonnement. Souvent, on voit superposé sur un noyau de grandes dimensions un petit avec un nucléole; souvent on voit aussi deux ou trois de ces bourgeons sur un noyau. » L'auteur ne

(1) Bien que de nombreux auteurs aient fait effort dans ce sens. Voir, notamment, les controverses provoquées par l'interprétation de ZIEGLER (1891), pour qui les amitoses sont dégénératives (M. LÖWIT, 1891, etc...).

(2) L'amitose nucléaire est conservée pendant toute la phase de travail de l'épithélium folliculaire chez *Pediculus* et ne semble pas en rapport causal avec le métabolisme (ILSE FISCHER, 1935).

donne pas d'autres détails. Il ne s'agit toutefois que d'une interprétation fondée sur l'examen de préparations colorées.

FISCHER et DOLJANSKI (1929) décrivent, dans des cultures de rate embryonnaire du Poulet, âgée de quatorze jours, lorsque les cellules du stroma ont pris l'aspect de fibrocytes et que les éléments libres n'existent plus, la néoformation, à la périphérie des colonies, de groupes de petites cellules libres. Elles peuvent naître spontanément, semble-t-il, mais surtout à la suite d'un traitement des cultures par l'acide arsénieux en vue d'expériences sur la cancérisation. Les petites cellules, au nombre de trois ou quatre, jusqu'à des milliers, peuvent disparaître puis réapparaître après quelques passages. Elles sont très polymorphes, en mouvement continu. Elles sont plus petites que le nucléole des fibrocytes ou atteignent, mais rarement, la taille d'un érythrocyte. Le cytoplasme est hyalin avec, cependant, quelques granulations éosinophiles ; le noyau suit les déformations de la cellule, il est souvent fragmenté, séparé en grains ; la chromatine est même disséminée dans le cytoplasme. Les petites cellules pénètrent dans les fibrocytes, où elles continuent leurs mouvements, y restent quelques heures ou plus longtemps et se divisent même, puis ressortent ; mais leur existence n'est pas durable. Cette symbiose ne se produit pas avec d'autres que les cellules spléniques. FISCHER et DOLJANSKI, FISCHER admettent des rapports génétiques entre les cellules du stroma et les petits éléments migrants ; leur création est mise en relation avec le phénomène concomitant et fréquent de fragmentation nucléaire — qui survient par districts — et avec la clasmatose. Les noyaux du stroma, où la chromatine est régulièrement répartie, émettent des hernies, des prolongements isolés ou multiples, se déforment, s'étirent. Les petits fragments nucléaires sont situés près du noyau, auquel ils sont réunis par un fin tractus, ou s'en éloignent. D'autre part, la clasmatose « qui pourrait provoquer la libération de formations cellulaires contenant un noyau » est fréquente ; les parties cytoplasmiques séparées ressemblent d'une manière frappante aux petites cellules décrites. Il est très possible que les causes de la clasmatose et de la fragmentation nucléaire soient les mêmes.

DELORENZI (1933), dans les cultures de tous les organes embryonnaires du Poulet, observe des éléments qu'il considère comme analogues à ceux de FISCHER et DOLJANSKI et qui correspondraient aux thrombocytes. Il distingue une forme amiboïde et une autre en fuseau, prolongée par un ou deux étirements polaires. Ces cellules qui pénètrent très activement dans les fibrocytes, puis se libèrent, sont issues des lymphocytes ; l'auteur croit qu'elles ne peuvent résulter de la clasmatose. G. LEVI (1934) n'est pas d'accord avec FISCHER, lequel prétend que les cellules en question ne proviennent pas du sang ou de la lymphe. LEVI estime qu'après huit passages on n'a pas la certitude qu'il ne reste plus de cellules sanguines originelles ; il note que l'extrait embryonnaire contient des thrombocytes en grand nombre et que, d'après DELORENZI, ceux-ci

manquent dans les cultures épithéliales pures sans extrait. Cependant, FISCHER et DOLJANSKI, FISCHER déclarent que leur petites cellules n'apparaissent pas dans d'autres cultures et se forment même quand l'extrait d'embryon est remplacé par une substance excitatrice artificielle, comme la « pellotérin ».

Les petits éléments libres obtenus en traitant une culture en goutte pendante de cellules vitellines ayant acquis le type fibrocyte, avec du carmin lithiné (p. 355), paraissent de même nature que ceux dont il vient d'être question. La supposition que de telles cellules ne puissent être issues des fibrocytes, comme le veulent DELORENZI et LEVI contre FISCHER et DOLJANSKI, semble donc assez injustifiée. Mais les petits éléments de FISCHER et DOLJANSKI ne résultent probablement pas de deux actes différents : fragmentation nucléaire, suivie ultérieurement et éventuellement de clasmotose (les auteurs tendent à le croire, mais ne l'affirment d'ailleurs pas). D'après ce que nous savons de la méroamitose transformatrice, la multiplication directe partielle du noyau et du cytoplasme doit se poursuivre sans interruption. Il est probable que ces petites cellules sont le fruit d'une méroamitose transformatrice plus ou moins dégénérative qui a échappé aux auteurs (on ne peut en être sûr qu'en analysant le phénomène à l'état vivant, pendant tout le temps nécessaire), et que la fragmentation nucléaire observée est un phénomène réactionnel ou dégénératif concomitant. Il semble qu'il en a été ainsi, lors de la formation de petits éléments libres, sous l'influence du carmin de ORTH, mais, dans ce cas, tous les stades n'ont pas été observés. Ces constatations incitent à penser que des thrombocytes, dans l'organisme, naissent peut-être à la suite de méroamitoses, et il serait intéressant de le vérifier à frais (1).

(1) Tout récemment, je viens d'avoir une controverse avec W. KOMOCKI. Cet auteur [KOMOCKI (WITOLD), Einige Bemerkungen zu den Arbeiten von : 1. P. S. SLONIMSKI, Zur Kenntnis der kernlosen roten Blutkörperchen (Erythroplastiden) bei Amphibien ; 2. J.-A. THOMAS, La transformation des cellules en histiocytes (*Arch. f. exp. Zellforsch.*, Bd. 19, S. 299, 1937 ; *Arch. f. exp. Zellforsch.*, Bd. 21, S. 258-265, 1938 (*Biblio.*)) Voir aussi : THOMAS (J.-ANDRÉ), Au sujet de considérations qui viennent d'être publiées sur le mode de multiplication cellulaire nommé : méroamitose (*Ibid.*, 281-285)] pense avoir établi lui-même, en 1924, un processus tel que la méroamitose, parce qu'il a décrit, sous le nom de *Knospungsprozess*, la formation des plaquettes du sang à partir de cellules mononucléaires. En réalité, il s'agit de l'interprétation d'images fournies par des frottis de sang. On ne peut que répéter : 1° que le bourgeonnement nucléaire n'est pas, *a priori*, en rapport avec la méroamitose, surtout lorsqu'on envisage la création d'éléments où la chromatine peut être disséminée en granules dans le cytoplasme (Voir notamment les figures 16 à 19 de la planche de KOMOCKI : *Arch. Anat. micro.*, 1926, Bd. 22, S. 266-289) ; 2° que des observations non effectuées sur le matériel vivant, d'une façon continue, du début à la fin du phénomène, ne signifient pas grand'chose. L'authenticité des conclusions est, dans ce cas, une question de chance. P. SLONIMSKI [Die Blutzellen und deren Abkömmlinge im Blute von *Batrachoseps attenuatus* Esch. (*Urodela*) (*ibid.*, 266-280)], qui est, lui aussi, l'objet des revendications de W. KOMOCKI, émet

R. C. PARKER (1932) observe la transformation spontanée en macrophages des fibrocytes issus du cœur depuis dix-neuf ans (souche CARREL et EBELING). Il écrit : « Bien que les expériences effectuées avec le microcinéma n'ont pu encore faire voir bourgeonner les macrophages à partir des fibroblastes, il a été enfin démontré, à l'aide de la chambre claire, que ceci avait lieu par une ou plusieurs divisions inégales de la cellule-mère. Pendant ces divisions il n'y avait pas d'indications des phénomènes bien connus qui accompagnent la mitose et qui la rendent si facile à déceler partout où elle se produit. Par exemple, les cellules ne s'arrondissaient pas, et il n'y avait pas de « bouillonnement » du cytoplasme. Les divisions étaient directes, suggérant l'amitose. Les dessins à la chambre claire montrant cela ont été reproduits (fig. 7 du texte). Mais, malheureusement, la culture qui a donné la preuve décisive était contenue dans un flacon du type ancien dont les parois étaient trop épaisses pour permettre de suivre, avec la plus grande précision, les changements nucléaires qui accompagnaient la division finale de la cellule en trois unités séparées. Chacune d'elles était nucléée, et l'une s'était transformée en un macrophage typique. Pour cette raison, il était nécessaire d'omettre les noyaux dans les dessins faits au cours de la période la plus intéressante. Cinq heures après que le dernier dessin avait été fait, on a trouvé que plusieurs autres macrophages avaient été formés. A ce moment, rien ne persistait du fibroblaste originel, que de petits restes au milieu du groupe de macrophages. Ceux-ci étaient chargés des plus grands globules et granules qui étaient inclus dans la cellule-mère.

« Une étude antérieure et ultérieure a montré une absence presque totale de figures caryocinétiques et d'autres preuves des divisions mitotiques, dans les cultures soumises pendant longtemps aux conditions de ces expériences. Des cellules contenant deux ou plusieurs noyaux sont nombreuses. L'amitose nucléaire est très fréquente (fig. 8 du texte ; fig. 20). Les études faites avec le microcinéma indiquent clairement que ces cellules plurinucléées sont très actives et ne sont pas des cellules en dégénérescence. En effet, chaque observation effectuée a été de nature à suggérer que la multiplication cellulaire dans ces cultures, aussi bien que la production de macrophages à partir des fibroblastes, peut se produire

un avis analogue. Que les plaquettes sanguines soient créées par *méroamitose*, je l'admettrais bien volontiers, mais encore faudrait-il l'établir et ne pas confondre les stades de ce mode de multiplication normale avec des aspects qui sont, en réalité, sans lien avec eux. Je ne doute pas que W. КОМОСКИ veuille bien se livrer, sur le matériel qui lui est familier, aux mêmes investigations que celles que j'ai cru nécessaire de poursuivre pendant longtemps chez des cellules vivantes. D'autre part, on ne peut non plus interpréter la formation de plaquettes par désagrégation des mégacaryocytes de la moelle osseuse, ou par clasmatose des « histiocytes endothéliaux » avec passage de granules nucléaires dans le cytoplasme, selon SPADOLINI (1933, 1934), comme étant de la méroamitose. Ce sont d'autres phénomènes, d'où résultent des éléments qui semblent incapables de proliférer d'une manière durable.

amitotiquement. Il est certain que le travail ultérieur à l'aide du microcinéma fournira finalement des informations plus détaillées, quant à la nature de ce type de multiplication cellulaire et aux conditions qui le prédisposent. »

E. VAUBEL (1933), lors de la transformation, *in vitro*, des cellules synoviales, retrouve un mode de multiplication analogue à celui signalé par PARKER ; des cellules rondes, comparables aux macrophages, sont émises par amitose, d'une façon plus rapide que d'habitude ; la cellule-fille contient seulement un petit noyau et un peu de cytoplasme. La cellule-mère garde sa forme mais ne reprend pas sa taille normale après la division ; elle peut émettre aussitôt une deuxième cellule libre. Les éléments néoformés se multiplient ultérieurement par mitose ou amitose.

Les observations de PARKER portent certainement sur la méroamitose transformatrice ; il en est probablement de même de celles de VAUBEL, s'il s'agit, dans ce cas, de véritables macrophages. Toutefois, comme le montrent leur texte et leurs dessins, ces auteurs n'ont pu, à cause des difficultés matérielles de l'observation, analyser complètement ni interpréter le phénomène qu'il leur était donné de constater. Il a été exposé qu'au moyen du cinématographe nous avons pu suivre la méroamitose transformatrice spontanée des cellules vitellines, d'une façon globale et non dans le détail, mais que les techniques, mises au point depuis, permettront à celui qui désirera le faire et en aura les moyens matériels d'enregistrer complètement le phénomène. En outre, les recherches patiemment poursuivies (1933-1935) sur le matériel vivant et fixé, épithélial et d'origine conjonctive, conduisent à individualiser la méroamitose comme un mode de multiplication normal, ayant ses caractères propres, présentant une certaine généralité, aboutissant à la formation d'éléments capables de se reproduire ensuite d'une manière durable.

La méroamitose multiplicatrice, en ce qui concerne la division du noyau, est sans rapport avec la fragmentation nucléaire (1), à plus forte

(1) Les lacunes observées dans les gros noyaux après le départ des petits sont bientôt comblées et n'ont nullement la signification d'un processus de dégénérescence, ce qui est le cas des noyaux troués chez les desmocytes, d'après CHLOPIN (1931).

raison avec l'émission éventuelle de chromidies dans le cytoplasme (1). L'expression de : bourgeonnement, désignant la multiplication du noyau, n'est pas absolument inexacte, mais rend mal compte des faits. En tout cas, ce terme, appliqué à la cellule entière, serait faux ; le bourgeonnement typique, tel que le définissent les botanistes (A. GUILLIERMOND), paraît d'abord un phénomène cytoplasmique ; un bourgeon nucléaire s'introduit secondairement dans un autre, individualisé par le cytoplasme, puis se coupe, ainsi que celui dans lequel il est inclus ; ou, pour le moins, les mécanismes nucléaire et cytoplasmique sont concomitants. La mérocaryodiérèse peut être comparée à une endoamitose extrêmement inégale ; il y a du reste des stades intermédiaires entre elle et l'endoamitose. Elle peut être suivie, en tout cas, d'une méroplasmodiérèse aboutissant à la création d'une cellule-fille.

Il devient évident que la distinction de la fragmentation nucléaire, du bourgeonnement, de l'endoamitose, est aisée, lorsqu'il s'agit de méroamitose transformatrice. Elle ressemblerait plus à une exoamitose fort inégale, mais la cellule-fille est d'une autre nature que la mère, qui, d'autre part, continue ses divisions jusqu'à se détruire complètement.

La méroamitose ne prête pas à confusion, non plus, avec l'endocytogenèse. Sous ce nom, RÉMY COLLIN (1924) désigne la formation, au sein d'une cellule de la préhypophyse adulte en régénération, d'une jeune cellule ou endocyte, de même nature que sa mère qui joue le rôle de cytoblaste. Il y a d'abord endoamitose, puis une mince auréole cytoplasmique pâle se développe autour d'un des deux noyaux. Cette énergide grossit, est délimitée par une membrane, refoule le matériel de la cellule-mère qui dégénère, enfin se libère : c'est une jeune cellule chromophile. On trouve quelquefois plusieurs endocytes dans un même élément.

(1) LUFORD (1925) voit que le nucléole vient parfois contre la membrane nucléaire, provoque la formation d'une petite vésicule qui est libérée dans le plasma où elle se dissout, ce que RUMJANTZEW (1928) attribue à une altération. Il arrive que de petites masses nucléaires, dont l'émission par le noyau de la cellule vitelline est suivie directement, ne soient pas retrouvées dans la suite, elles semblent dégénérer. Il faut séparer de tels phénomènes, dont la signification n'est pas précisée, de la méroamitose processus physiologique.

L'émission de substances par le noyau (ou le nucléole) est un phénomène interprété, suivant les cas, comme une sorte de régénération ou de régularisation [R. HERTWIG, POPOFF, BENNINGHOFF (1923); d'après qui le *nebenkern* disparaît, tandis que le noyau principal reste vivant], soit comme un mécanisme lié à la sécrétion (formation de parasome, etc...), ou à l'élaboration de substances de déchets. Citons, parmi les travaux récents, ceux de R. ARGAUD (1921), R. COURRIER (1921), J. MILLOT (1926), PAILLOT et NOËL (1928), Z. GRABOWSKA (1930). Toutefois, P. GRASSÉ et L. LESPERON (1934) font la critique des observations de leurs prédécesseurs, en ce qui concerne la sécrétion de la soie ; ils ne voient pas de participation nucléaire directe. Néanmoins, le gigantisme du noyau, sa forme ramifiée sont des signes d'une activité métabolique indéniable.

Ce procédé de multiplication a été retrouvé par des auteurs (cités par COLLIN, 1937; STUTINSKY, 1938); d'autres en ont douté, invoquant, par exemple, la pénétration partielle d'une cellule dans une autre (MORATO, 1936), argument dont COLLIN a limité la valeur tout en réaffirmant ses conclusions.

La méroamitose est sans analogie avec les pseudoamitoses (HÆCKER 1910; ALBERTI et POLITZER, 1923-1924; POLITZER 1924-1934, etc.), ce sont des mitoses troublées, en général, par l'expérimentation (qui provoque en outre la fragmentation nucléaire); les premiers stades en sont reconnaissables. Le comportement du nucléole plasmatique, — dont on observe l'amiboïsme, les variations (de même que STRANGEWAYS, 1922; LUDFORD, 1925, etc.) et la division inégale lors de la méroamitose, — est très significatif à cet égard. Le même raisonnement est applicable aux mitoses rudimentaires, comme les haplomitoses des protistes (P.-A. DANGEARD), ou aux processus qu'on en a rapprochés (HARANT, 1930), etc., ou aux prétendues formes de passage entre les divisions directe et indirecte décrites chez les cellules végétales et animales (UHLENHUTH, 1916 etc.; SAGUCHI, 1930, etc.), qui font probablement partie, ainsi que d'autres aspects décrits (DREYFUS, 1932, etc.), des *mitoses modifiées* (CONKLIN, 1917), au cours desquelles la membrane nucléaire peut persister (NAVILLE, 1922, etc.).

HOWARD B. STROUGH (1931, 1935) fait des travaux intéressants sur la mitose modifiée, ainsi que sur son rôle dans le développement de l'embryon de la Poule et dans la prolifération des tissus cultivés. L'auteur (1931) trouve la mitose modifiée d'abord dans le muscle strié, puis dans les premiers stades de tous les tissus et organes principaux de l'embryon. Il y a division du noyau, consécutive à la formation d'une plaque nucléaire, sans que l'on aperçoive de centrosome, ni d'aster et sans disparition de la membrane. H. B. STROUGH rapporte ce processus à la division indirecte parce qu'il distingue, assez souvent, un certain nombre de corps séparés dans l'une ou les deux masses chromatiques de chaque noyau; celles-ci ont l'aspect de mûres; elles ne représenteraient pas des nucléoles ou des caryosomes, mais des amas de chromosomes très petits pouvant se diviser. Dans les tissus où les cellules sont bien limitées, le partage du cytoplasme a été constaté. Cette mitose modifiée favoriserait la prolifération nucléaire, nécessaire aux tissus poussant rapidement. La quantité totale de chromatine est beaucoup moins grande que celle trouvée dans les noyaux subissant la mitose typique. L'auteur a le mérite d'établir (1935) les index mitotiques dans la plupart des tissus au cours du développement de l'embryon du Poulet, de vingt-deux heures à huit jours; il complète et étend les travaux de ses prédécesseurs. En aucun cas, le pourcentage des mitoses n'explique l'accroissement du nombre des cellules. Il arrive, par le calcul, à cette conclusion que 98,5 p. 100 des éléments ne présentent pas de phases de la mitose, qui paraît, d'ailleurs, non périodique. H. B. STROUGH tend à généraliser ses idées et à considérer

que la division directe est douteuse et appartient, en réalité, à la mitose modifiée. En définitive, ce processus, qui survient après la mitose typique serait probablement en rapport avec la différenciation irréversible des cellules. Le calcul des index de pycnose est une tâche pénible et sujette à des erreurs ; mais, si les nombres de HOWARD B. STROUGH étaient vérifiés, ses conclusions sur l'impossibilité d'expliquer la croissance embryonnaire uniquement par la mitose auraient beaucoup de valeur. Elles contribueraient à modifier, sur ce point, le conformisme scientifique, suivant lequel on déclare, en général, qu'il n'y a pas multiplication quand on ne voit pas la Caryocinèse. Reste à interpréter les descriptions de la mitose modifiée que donne l'auteur. On peut, en effet, ne pas attribuer grande importance à l'absence de centrosphère et à la persistance de la membrane ; mais il faut aussi remarquer que la chromatine au repos est souvent disposée, surtout chez les cellules soumises à une forte imbibition, comme dans les cultures, en petits granules groupés plus ou moins étroitement sur ou dans un plasmosome, qui peut être complètement masqué et prendre l'aspect d'une mûre (1). On ne peut contester, en tout cas, les images de division des masses chromatiques ; toutefois, l'existence de mitoses modifiées n'autorise pas à nier, en général, la réalité de l'amitose, à moins d'examiner à nouveau, à l'état vivant, les principaux cas interprétés comme tels.

La méroamitose multiplicatrice est probablement un processus limité à certains tissus particuliers où la prolifération est rapide et où la mitose pourrait être inhibée. On la trouverait peut-être, dans certains cas, en même temps que l'amitose proprement dite, si on la cherchait chez des cellules souches hématoconjonctives, dans les syncytiums, dans les annexes fœtales, peut-être dans le sarcoplasme des fibres striées (bourgeons régénérateurs) ; probablement aussi dans certaines cellules épithéliales glandulaires ou dans des glandes d'aspect particulier (celle de LÖWENTHAL, par exemple), dans le système neurovégétatif central (d'après les travaux de ROUSSY et MOSINGER) et périphérique ; enfin, très vraisemblablement, dans des tissus en régénération, dans des foyers inflammatoires (2), dans les tumeurs.

(1) Sans qu'il s'agisse, bien entendu, d'état granuleux dégénératif du nucléole (CARLETON, 1920, etc.).

(2) JASSWOIN (1929) observe que les jeunes fibrocytes du tissu conjonctif lâche, chez les Mammifères, se multiplient par mitose, puis par amitose, et forment de très petites cellules qui périssent probablement. Le mécanisme et la signification de ce phénomène devraient être précisés.

La méroamitose transformatrice semble avoir plus d'importance ; il paraît légitime de supposer que, dans l'organisme, le passage des cellules à l'état de macrophages s'opère — lorsqu'il y a multiplication — par ce procédé.

En tenant compte des travaux de ces dernières années sur la systématisation des modes de division directe, selon un ordre *éventuel* de généralité, en faisant un groupe à part provisoire pour tout ce qui se rapporte aux pseudoamitoses et aux mitoses modifiées, en rejetant tous les processus d'ordre plus ou moins dégénératif de gigantisme et de fragmentation nucléaire, la classification actuelle de la division directe chez les cellules normales des métazoaires pourrait être la suivante :

<i>Division directe</i> (REMAK, 1841).	$\left\{ \begin{array}{l} 1^{\circ} \text{ Amitose } \\ \text{proprement} \\ \text{dite.} \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} \text{A. endoamitose (1).} \\ \text{B. exoamitose.} \end{array} \right.$	(M. HEIDENHAIN, 1925) :
			caryodiérèse seule (initialement).
			(M. HEIDENHAIN, 1925) :
			caryodiérèse et plasmodiérèse.
	$\left\{ \begin{array}{l} 2^{\circ} \text{ Méroamitose (multiplicatrice et} \\ \text{transformatrice).} \end{array} \right.$		(J.-ANDRÉ THOMAS, 1935) :
			mérocaryodiérèse et méroplasmodiérèse (cellule-fille semblable à la mère, ou transformée).
	$\left\{ \begin{array}{l} 3^{\circ} \text{ Amitose endocytogène} \\ \text{(ou endocytogénèse).} \end{array} \right.$		(R. COLLIN 1924) :
			caryodiérèse ou mérocaryodiérèse et méroplasmodiérèse endocellulaire.

Mitoses modifiées.

B. — Sur l'inhibition de la mitose.

Dans les cultures d'épithélium vitellin, les mitoses surviennent puis disparaissent, à l'inverse de ce qui se passe d'habitude. On trouve quelques caryocinèses dès le début du deuxième jour de la croissance, alors que les cellules sont encore très chargées de deutoplasme. D'après les données nombreuses sur les rapports de la prolifération avec la différenciation ou la sécrétion, les mitoses devraient augmenter de nombre, à mesure que les cellules se débarrassent de leurs enclaves. Il n'en est rien : les caryocinèses, en général très peu

(1) E. GRYNFELTT (1935) distingue dans l'endoamitose : la protophase, la mésophase et la télécophase.

nombreuses, réparties sans situation nettement privilégiée, plutôt vers l'explant épais, parfois au bord de la mosaïque, cessent totalement à partir du troisième jour, jusqu'à la fin de la croissance épithéliotypique. Il arrive qu'on n'en puisse trouver, même dans la première période de la prolifération.

Dans les colonies épithéliales de la partie médullaire du rein, chez le Lapin adulte, d'après EPHRUSSI et A. LITVAC (1934), les mitoses ne surviennent qu'après environ quarante-huit heures de culture ; leur nombre augmente ensuite graduellement, pouvant atteindre, par rapport à la totalité des cellules, jusqu'à 15 p. 1 000. Les coefficients mitotiques sont légèrement plus élevés dans la zone périphérique des membranes épithéliales que dans celle du centre ; la différence est toutefois bien moins prononcée que dans les populations de fibrocytes, d'après les calculs de FISCHER et PARKER (1929).

Chez l'entoblaste vitellin, le mouvement de glissement des cellules n'est donc pas uniquement responsable de l'extension de l'épithélium, pendant les premiers stades, comme EPHRUSSI et LITVAC l'observent dans le rein. D'autre part, pourquoi les caryocinèses cessent-elles complètement, faisant place à l'amitose et à la méroamitose ? Il semble très légitime d'en chercher la cause dans la présence des enclaves de vitellus en digestion. On trouve en effet de nombreux cas où le deutoplasme paraît avoir une influence sur les noyaux cellulaires.

Ceux du syncytium vitellin, *in vivo*, sont intéressants à étudier à cet égard. Chez les Sélaciens, ils présentent des anomalies signalées par BALFOUR (1878), ZIEGLER (1895), RUCKERT (1899), HIS (1897), DUBUISSON, 1906, etc... ; ils sont, selon les cas, bourgeonnants ou incisés, déformés, ramifiés, troués, présentant des différences régionales de colorabilité, deviennent géants, ont des mitoses pluripolaires ou dégénèrent. HIS écrit : « La condition particulière qui mène à la formation de noyaux géants et à la division pluripolaire est probablement la nutrition extrêmement favorable offerte par le vitellus. » Chez les Téléostéens (HENNEGUY, 1888 ; ZIEGLER ; BERENT, 1896 ; DUBUISSON, etc...), les noyaux du parablaste entrent aussi en mitose pluripolaire et en amitose ; il y en a de petits et de grands ; ils sont fréquemment par groupes ; ils prennent peut-être part physiologiquement à l'assimilation du vitellus, d'après ZIEGLER. Chez la Truite (HENNEGUY), les noyaux se divisent en fragments globuleux entourés d'une membrane et possèdent un à trois grains de chromatine ; ils pourraient émigrer dans l'embryon. Les noyaux

émettent aussi des bourgeons, sont géants, se fragmentent (BERENT). Les nucléoles peuvent eux-mêmes bourgeonner sur un ou plusieurs points, libérer une portion (DUBUISSON). Des anomalies sont signalées encore chez d'autres espèces : groupes de petits noyaux dans les cellules vitellines humaines (PHISALIX, 1888), dans celles de la Vipère (DUBUISSON, 1904, etc...). Sur coupes, les noyaux de l'entoblaste vitellin, chez la Poule, sont de taille inégale.

P. WINTREBERT (1935) reprend l'étude des mitoses irrégulières des mérocytes vitellins des Sélaciens. Ces divisions défient toute règle numérique et montrent un partage quantitatif très inégal de la chromatine. Or, il est important de constater, cependant, que l'embryon des Sélaciens tire de la cytolation du plancher vitellin la majeure partie des cellules de ses feuilletts. Les mitoses mérocytiques sont de grande taille ; de gros blocs chromatiques restent en route et ne rejoignent pas les pôles ; des liens fusoriaux persistent entre les noyaux-fils ; il existe des divisions indirectes ayant jusqu'à cinq centres. Dans la profondeur du parablaste, la mitose se terminerait à chaque pôle par une fusée de petits noyaux ; on en trouve en effet des groupes de 2 à 11, bien individualisés ; ils semblent correspondre chacun à une des masses chromatiques demeurant isolées avant la télophase (1).

On sait, cependant, que le vitellus, loin d'être un facteur de croissance pour les tissus en cultures, semble inhibiteur ; toutefois les fibrocytes sont fortement stimulés, d'après G. P. WRIGHT (1926), par le produit de la dialyse du jaune d'œuf incubé.

D'autre part, des conditions particulières ou la formation de substances inhibitrices ont été invoquées pour expliquer l'arrêt de la mitose et de la croissance. Plusieurs travaux établissent que la caryocinèse est en général remplacée par l'amitose chez les cellules très différenciées. « L'existence entre la période mitotique et la période amitotique, de divisions caryocinétiques sous membrane nucléaire, semble indiquer le développement de conditions physico-chimiques s'opposant à l'évolution caryocinétique normale et qui pourraient être une des causes du remplacement des divisions indirectes par de simples divisions directes » (NAVILLE, 1922). *In vitro*, la notion d'inhibition résulte des travaux de CARREL et EBELING, de BUCH-ANDERSEN et FISCHER, de SIMMS, etc... EPHRUSSI et LITVAC interprètent l'augmentation du pourcentage des anaphases et des télophases, dans l'épithélium rénal adulte, comme traduisant peut-être l'action de blocage, sur les derniers stades de la mitose, d'un facteur tel qu'un produit du métabolisme. Des résidus empêchant la prolifération des cellules semblent accumulés dans la partie marginale du milieu de culture ; si cette région est prélevée et remplacée par un milieu frais, l'accroissement est beaucoup plus considérable (E. MAYER, 1935) (1).

(1) Dans les cultures de mésenchyme du poumon humain embryonnaire, CAFFIER (1930) observe des variations dans le nombre des chromosomes (comme

Les petits noyaux sont très nombreux dans les zones où l'entoblaste est épais et très chargé de vitellus ; ils naissent vers la face profonde du tissu. On pourrait se demander s'ils ne proviendraient pas, dans ces régions, des masses chromatiques résiduelles des mitoses, selon le processus envisagé par WINTREBERT. Il arrive, en effet, que des chromosomes soient en situation aberrante sur le fuseau, à la métaphase ; mais, étant données la rareté des mitoses et l'abondance des petits noyaux, il ne semble pas que ceux-ci résultent de divisions indirectes atypiques, sauf exception pendant la première phase du développement des colonies. De plus, le seul mécanisme suivi a été la formation des petits noyaux par méroamitose. Les amitoses et les méroamitoses existent avant que les caryocinèses n'aient cessé. Le nombre des deux sortes de division directe paraît augmenter lorsqu'on dépose du vitellus sur une culture d'épithélium vitellin (fig. 7).

L'analyse cytochimique montre qu'une matière lipoprotéique, dont les caractères principaux sont indiqués (p. 297), diffuse des enclaves de vitellus en digestion et pénètre dans le noyau ; elle y est décelable dans le segment proximal (1). Il est fort probable que ce complexe, ou un de ses constituants, ou une substance qu'il entraîne, est responsable de l'inhibition de la division indirecte. On peut supposer que ce corps agit d'une manière limitée ou est éliminé, *in vivo*, puisque les auteurs ont trouvé des mitoses dans le syncytium vitellin de divers animaux (2), mais il s'accumule progressivement, en quantité plus ou moins grande selon la nature du tissu, *in*

cela est constaté, du reste, dans d'autres tissus) et dans le cours de la mitose : fuseaux asymétriques, multipolaires, chromosomes aberrants, plaques équatoriales incomplètes. Ces modifications sont retrouvées, *in vivo*, par un autre auteur dans le même tissu en croissance. Y aurait-il une relation entre l'existence de ces mitoses atypiques et les produits résultant de la fonction lipolytique du poumon, à supposer que celle-ci se manifestât déjà chez l'embryon, à ce stade ?

(1) Le passage de substances dans le noyau n'est pas un fait exceptionnel. C'est l'interprétation que donne W. BERG (1932, 1934) de la formation, dans celui des cellules hépatiques, de vésicules qui vident leur contenu dans le cytoplasme ; il observe aussi la présence de cristaux nucléaires, probablement d'acide urique, de glycogène, de graisses.

(2) Il faudrait savoir si les mitoses ne diminuent pas de nombre, ou même existent encore, lorsque le vitellus est en pleine digestion.

vitro, avant d'être détruit, circonstance nécessaire au recommencement des mitoses. Les fibrocytes en goutte pendant l'élaboration de substances intraprotoplasmiques inhibitrices de la caryocinèse ; leurs déchets, rejetés dans le milieu, n'interviendraient que d'une façon indirecte, lors de la limitation de la taille des colonies.

L'arrêt de la mitose, chez des éléments en activité élaboratrice et métabolique active, fait sur lequel PETER (1925-1929), WASSERMANN (1913, 1929) et d'autres, ont attiré l'attention, semble donc résulter principalement — lorsque les cellules ne sont pas à un état de différenciation trop évolué — *de la formation, en rapport avec les conditions du rythme de travail, d'un produit diffusant dans le cytoplasme, puis dans le noyau, et empêchant le mécanisme de la cinèse. La multiplication directe intervient ensuite* (1) ; *un de ses effets est de régulariser le rapport nucléo-plasmique par agrandissement de la surface nucléaire ; elle peut être considérée, fréquemment, comme un phénomène physiologique de suppléance en ce qui concerne la prolifération.* Il se peut que certains corps inhibiteurs issus de complexes lipoprotéiques (tissu vitellin, nerveux), et répartis inégalement dans le noyau, favorisent secondairement la division méroamitotique (2).

C. — *Sur la persistance de la spécificité dans ses rapports avec le mode de multiplication.*

On n'observe pas de sécrétion figurée chez les macrophages

(1) Dans un mémoire tout récent, ILSE FISCHER (1938) constate que, si les amitoses surviennent dans une culture de l'épithélium de l'iris, elles n'y sont pas rares ; on peut donc supposer, pense-t-elle, que certains facteurs provoquent l'apparition des amitoses. Il paraît plus probable d'admettre que cette incitation n'est pas directe, mais secondaire à l'inhibition de la mitose.

(2) Des essais d'extraction d'une substance inhibitrice, portant notamment sur le vitellus des œufs au huitième jour de l'incubation, qu'il s'agisse de la fraction soluble dans l'éther (colorable intensément, presque de suite, par la fuchsine de SCHIFF) ou du résidu protéique, n'ont pas donné jusqu'ici de résultats satisfaisants sur les cultures de fibrocytes du cœur. Le corps cherché paraît labile et difficile à extraire ; il est vraisemblablement nécessaire, d'autre part, qu'il pénètre dans le noyau lui-même. Il se peut que la présence de protéines, dans le complexe décelé dans cet organe cellulaire soit fortuite et qu'un dérivé des lipides soit en cause. L'intérêt serait très grand d'isoler une substance dont l'action serait non d'arrêter et d'altérer le mécanisme de la mitose, comme fait la colchicine par exemple, mais d'en empêcher le déclenchement.

issus des fibrocytes du cœur, lorsqu'ils ne prolifèrent plus. Dans les mêmes conditions, ceux provenant des cellules vitellines élaborent, comme celles-ci, des enclaves comparables aux masses deutoplasmiques. *La preuve est donc faite qu'une cellule glandulaire garde sa spécificité de sécrétion lorsqu'elle passe à l'état de macrophage, quoique la plupart de ses autres fonctions soient profondément modifiées.* Mais cette notion gagne en importance si l'on remarque que les cellules vitellines se reproduisent d'abord par mitose, puis par amitose et méroamitose, enfin qu'elles se transforment en macrophages par ce dernier mode. La multiplication directe suffit à assurer la persistance durable des propriétés spécifiques fondamentales. Ensuite, les cellules vitellines évoluées, du type fibrocyte, ou celles qui se sont transformées en macrophages adoptent la caryocinèse.

La réapparition de la multiplication mitotique chez les cellules qui se sont partagées selon le mode direct, a été souvent discutée. Quelques expériences anciennes, effectuées sur des cellules végétales ou animales, montrent que ce fait est possible; MAXIMOW (1908) l'admet; F. WASSERMANN (1929) en est sûr. On sait aussi, d'après MACKLIN (1927), SAGUCHI (1930), CHLOPIN (1931), etc., qu'une cellule en culture, déjà binucléée par division nucléaire directe, peut entrer en mitose, mais on ignore si les éléments qui en résultent peuvent faire souche. Chez la cellule vitelline, la réapparition de la caryocinèse après une phase de reproduction directe est la règle; le nombre des chromosomes, qui paraît être 30 à la métaphase, est à nouveau 30 lorsque les mitoses succèdent à la période amitotique. On trouve, en outre, une différence entre la formule chromosomique de la prophase, qui est d'environ 70, et celle de la métaphase. Cette particularité est signalée par quelques-uns des auteurs qui analysent les chromosomes chez la Poule. Il semble que le nombre de ces organites n'y soit pas constant (1). L'étude détaillée du

(1) On en trouve, par exemple, à la prophase et à la métaphase, respectivement : 60 à 70 et 35 à 40 (HANCE, 1924-1926), 42 et environ 30 (SAGUCHI, 1930), 60 à 70 et 30 à 45 (POPOFF, 1933, Leghorn blanche), etc... La différence observée tiendrait aux variations du nombre des petits chromosomes à la

processus nucléaire de la méroamitose, la très faible quantité de chromatine transmise aux cellules vitellines filles, font douter que, dans ce cas, les chromosomes conservent une certaine individualité dans le noyau, lorsqu'il n'est pas en période de mitose : sinon, il faudrait admettre que chaque chromosome serait représenté, pendant la méroamitose, par une parcelle très petite et variable de sa substance. En outre, on est conduit à supposer que les phénomènes de reconstitution synthétique de la chromatine sont importants, peut-être en raison de la présence du vitellus dans le cytoplasme.

Les recherches de MEVES (1891), celles de Cl. REGAUD (1901), de CHILD (1907), nous ont appris que des cellules, à l'origine de la lignée germinative elle-même, peuvent se multiplier par amitose. *Les travaux sur la continuité génétique des chromosomes ne doivent donc pas nous autoriser à négliger ce fait, vérifié de façon expérimentale grâce à la cellule vitelline : une cellule normale, différenciée, peut se reproduire d'une manière durable en gardant ses caractères spécifiques fondamentaux, qu'il y ait ou non, au cours de son évolution, apparition de chromosomes.*

métaphase, d'après POPOFF ; cette inconstance serait surtout due à une différenciation insuffisante du colorant pour S. JENTSCH (1935) ; il y aurait, de même que pour H. BAUER (1932), 42 éléments en tout. Enfin R.-A. MILLER (1938), qui donne une table des résultats connus, ne peut fixer le nombre exact des chromosomes ; il varie entre 51 et 60 chez les spermatogonies, entre 38 et 40 chez les spermatocytes. Le nombre haploïde des chromosomes serait probablement 40.

CHAPITRE II

Aspect physiologique de la transformation en cellules du type histiocyte.

1. — COMPARAISON DES PHÉNOMÈNES OBSERVÉS CHEZ LES CELLULES VITELLINES ET CHEZ LES FIBROCYTES.

Il est possible, maintenant, de comparer le processus de la transformation spontanée en macrophages, de deux éléments très dissemblables : les cellules vitellines épithéliales et les fibrocytes issus du cœur. Les phénomènes, dans l'un et l'autre cas, offrent de profondes analogies et quelques différences dues, probablement, en ce qui concerne les cellules entoblastiques, à leur grande taille et à leurs enclaves deutoplasmiques.

L'exposé et l'interprétation des faits montrent que les macrophages résultent d'un mécanisme paraissant être le même chez les cellules de l'épithélium vitellin (2^e partie) et, selon ce qui a été désigné par mode II, chez les fibrocytes (3^e partie) : ces deux catégories histologiques leur donnent origine en série par méroamitose transformatrice. Tout se passe comme si la variation structurale et fonctionnelle était localisée principalement au matériel cellulaire en train de s'individualiser. On n'observe pas de stades intermédiaires progressifs entre les cellules nouvelles et leur élément générateur ; de celui-ci, sous son ancien état, il ne subsiste finalement rien. Le phénomène dure plus ou moins longtemps, il se poursuit souvent pendant quelques jours.

Les fibrocytes ont aussi la possibilité de passer peu à peu à l'état hystiocytaire sans qu'il y ait multiplication

(mode I, 3^e partie) ; on trouve alors des stades intermédiaires entre les deux éléments types. Les cellules vitellines de grande taille ne procèdent pas de la sorte. Pendant la période de transformation par méroamitose, les fibrocytes émettent, en général, et rétractent rapidement une quantité de petits lobopodes ; leur endoplasme est dense ; leur chondriome groupé auprès du noyau ; des lipines démasquées se condensent en boules ; les cellules vitellines ne continuent pas à produire de lobopodes ; la structure de leur endoplasme chargé de vitellus en digestion est assez peu modifiée.

Nous avons vu (p. 280) qu'on peut déceler des groupements sulfhydrilés liés aux protéines, dans les colonies d'épithélium vitellin, bien après l'arrêt de la prolifération en milieu dépourvu de facteur de croissance. Cependant la transformation en macrophages, surtout aux stades initiaux, correspond à une augmentation des propriétés réductrices des cellules, le rH_2 étant évalué parfois à 15,1 (p. 445). Chez les fibrocytes, la disparition des groupements sulfhydrilés (ceux du glutathion et ceux liés aux protéines), dans les colonies ayant terminé leur accroissement en milieu sans extrait embryonnaire (p. 374) permet, dans ces conditions, de constater de façon nette des variations en rapport avec la méroamitose transformatrice (ANDRÉ THOMAS, 1934). La réaction au nitroprussiate de sodium pour les groupements-SH protéidiques, qui est rendue stable grâce à un lavage rapide à l'acétate de zinc à 5 p. 100 (GIROUD et H. BULLIARD, 1934), réapparaît faiblement dès les stades à lobopodes. Dans la suite, elle est plus ou moins intense, suivant, semble-t-il, l'abondance des éléments en transformation ; la teinte obtenue va du rose au rouge. La variation cellulaire considérée peut être interprétée comme un phénomène de croissance ; mais, à supposer que la méroamitose joue un rôle dans l'apparition de la réaction au nitroprussiate, elle ne le joue pas seule, car celle-ci est positive avant les phénomènes de multiplication. Il est donc permis de penser que, lors de la transformation en cellules du type histiocyte, il y a libération de groupements-SH d'origine protéidique.

2. — DISCUSSION.

A. — *Aspect histophysiologique.*

La question des rapports génétiques entre les fibrocytes et les cellules histiocytaires est traitée par de nombreux auteurs. D'après une théorie, dont le représentant principal fut MAXIMOW, le fibrocyte est irréversiblement différencié, tandis que l'histiocyte et le clasmatoocyte (1) restent doués, dans une certaine mesure, des potentialités évolutives du mésenchyme embryonnaire : en particulier, ils passent à l'état de macrophage (2). Une autre conception est que le macrophage — ou, tout au moins l'élément libre amiboïde — provient non seulement de diverses cellules du système histiocytaire (la participation de celles des endothéliums vasculaires est fort discutée), mais du fibrocyte lui-même. Cette opinion, adoptée par PAPPENHEIM, MARCHAND, GRAWITZ, WEIDENREICH, BENNINGHOFF, DE HAAN, W. et M. VON MÖLLENDORFF, MJASSOJEDOFF, SCHULTZ, K. BAUER, BRUNI, JASSWOIN, WEATHERFORD, SEKI, etc..., est confirmée par les résultats obtenus en culture de tissus (p. 457). On trouvera une partie de l'exposé bibliographique dans divers mémoires (signalons celui de WEATHERFORD, 1933) et, principalement, dans les remarquables ouvrages de G. LEVI (1934 et 1935). Nous ne ferons que situer les tendances les plus importantes : irréversibilité du fibrocyte, réversibilité possible, mais rare ou, au contraire, fréquente.

ASCHOFF, DOMINICI, EVANS et SCOTT, STRANGEWAYS, LEWIS et LEWIS, FISCHER-WASELS, TANNENBERG, TIMOFEJEWSKY, PFUHL, etc., considèrent que le fibrocyte évolué et l'histiocyte sont éléments séparés, ou que la première cellule ne se transforme généralement pas en la deuxième. MAXIMOW (1928-1929) pense que le fibroblaste est différencié et n'a pas de potentialités prospectives ; il est rare qu'il prenne l'aspect de polyblaste, ce que font les cellules migratrices quiescentes. Les cellules du type fibroblaste provenant des polyblastes peuvent, dans une première période, sous diverses incitations, se contracter rapidement et redevenir amiboïdes ; mais, après sept à douze jours, elles deviennent des fibroblastes typiques irréversibles. N. CHLOPIN (1931) analyse minutieusement

(1) *Homologie* : macrophage fixe de METCHNIKOFF, clasmatoocyte de RANVIER, cellule clasmatoocytaire de RENAULT et DUBREUIL, histiocyte fixe de KIYONO et d'ASCHOFF, cellule migratrice quiescente de MAXIMOW.

(2) *Homologie* (s'il s'agit d'éléments mobilisés) : macrophage de METCHNIKOFF, cellule raghiocrine arrondie libre de RENAULT, cellule lymphocytaire de DUBREUIL (d'après JOLLY), leucocyte endothélial de MALLORY, cellule adventitielle de MARCHAND, cellule à pyrrhol de GOLDMANN, cellule polymorphe migratrice histiogène de WEIDENREICH, polyblaste de MAXIMOW (macrophage histiogène).

le mésenchyme humain. Ce « blastème d'explantation » s'organise progressivement ; les éléments fixes sont à des états inégaux de maturité : les desmoblastes (ou thymocytes de TAIT et GUNN) sont encore réversibles ; les desmocytes ne le sont plus. Pour SEEMANN (1931), les fibrocytes ne se transforment pas en histiocytes : ils sont aussi différenciés que n'importe quel élément glandulaire.

D'après BLOOM (1931 et 1937), il semble sûr que les polyblastés peuvent se transformer en cellules ressemblant aux macrophages, dans les cultures de tissus, et il est faux d'affirmer qu'elles meurent, car elles se multiplient. Lors de l'inflammation, quelques fibroblastés deviennent probablement des macrophages. Mais, dans les conditions normales, la transformation d'une cellule fixe du tissu conjonctif en éléments mobiles est rare ; le seul cas certain est celui des changements cycliques dans les centres germinatifs des follicules lymphoïdes (DOWNEY et WEIDENREICH).

W. et M. VON MÖLLENDORFF (1926-1932) sont amenés, par l'emploi d'un procédé de coloration à l'hématoxyline et par les résultats d'une longue série d'expériences, *in vivo* et *in vitro*, à considérer les fibrocytes comme formant un vaste réseau syncytial, les cellules migratrices quiescentes en font partie. Les éléments de ce syncytium accumulent vitale-ment les colorants acides. La propriété de phagocytose ne dépend pas d'une augmentation mais plutôt d'une diminution de l'activité. La plupart des cellules vraiment arrondies ne phagocytent pas. Selon le degré d'irritation, les fibrocytes, qui se multiplient par amitose, se transforment en histiocytes capables de reconstituer le réseau après digestion du matériel absorbé. Ces auteurs, suivis par K. BAUER (1929), etc., ne font plus de distinction tranchée entre le réseau des fibrocytes — ceux-ci ne représentent qu'un aspect de travail — et le système réticulo-endothélial : il n'existe qu'un *appareil métabolique du tissu conjonctif*. J. DE HAAN (1926-1931) en vient à conclure : « Les types cellulaires connus sous le nom de lymphocyte, polyblaste, monocyte, macrophage ou fibroblaste peuvent être transformés les uns dans les autres d'une façon illimitée et réversible (1928) ». La forme de ces cellules est seulement déterminée par l'état du protoplasme. Le fibrocyte est difficilement réversible, il apparaît à la suite de la digestion du matériel nutritif. La formation d'histiocytes par les fibrocytes joue un rôle dans l'inflammation, mais secondaire, car il y a sûrement, tout d'abord, accumulation de cellules migratrices venues du sang (1). Pour WEATHERFORD (1933), les fibrocytes produisent localement une grande quantité de phagocytes dans l'inflammation aiguë bien circonscrite, avant qu'une immigration de cellules d'une autre source puisse avoir lieu. Il trouve des formes intermédiaires entre fibro- et histiocytes.

(1) Des monocytes émigrent normalement dans les tissus, ce que E. et L. CLARK (1930) vérifient par l'observation directe ; mais ce fait ne permet pas de préjuger les mécanismes possibles lors de l'inflammation.

La macrophagie est une propriété assez banale et sujette à des variations ; d'habitude, elle n'est pas manifestée par les fibrocytes, ou l'est peu ; mais ils l'acquièrent facilement sous diverses influences (bactéries, corps chimiques, etc...) comme beaucoup d'auteurs l'admettent avec RENAUT et DUBREUIL (1). La démonstration en est donnée, *in vitro*, par A. FISCHER et LASER (1927, action de l'oléate de sodium et de l'uréthane), TANNENBERG (1929, la différence dans le pouvoir de phagocytose des fibrocytes et des macrophages est seulement quantitative), M. VON MÖLLENDORFF (1929, 1932, chez des fibrocytes adultes traités ou non par le trypano-bleu), F. ROSSI (1933), B. KEDROWSKI (1935, rôle de l'association au fer de produits de la dégradation protéique), etc... Il faut remarquer que les résultats des épreuves de phagocytose diffèrent selon la procédure employée : les colorants acides, des corps particuliers, sont plus ou moins accumulés ou capturés, à la longue, s'ils sont ajoutés aux cultures au moment d'un passage ; ils ne le sont pas, lorsque déposés pendant quelques heures sur des cellules dont la prolifération est faible ou arrêtée : or, dans de telles conditions, les macrophages véritables font intensément preuve de leurs qualités. La supposition qu'on ne peut exiger d'une cellule des propriétés phagocytaires intenses aussitôt après sa transformation n'est pas fondée. GIESCHEN (1932), par exemple, déclare que la capacité d'accumulation d'un macrophage doit être évaluée plutôt selon celle du fibrocyte originel. Il semble, au contraire, d'après les résultats exposés, qu'on ne doit désigner comme cellules du type histiocyte que les éléments de structure et de comportement caractéristiques qui, dès leur naissance, sans incitation expérimentale, peuvent chaque fois accumuler rapidement les colorants acides, englober plusieurs érythrocytes, assimiler de façon directe et durable les protéines du sérum et proliférer activement. C'est dire que l'on tient pour insuffisamment démontrés quelques-uns des cas de transformation cités (p. 457) : un fibrocyte arrondi, même s'il accumule des colorants et acquiert un certain pouvoir phagocytaire par suite d'une

(1) DOMINICI conclut que l'aptitude phagocytaire tend à disparaître, seulement lorsque le fibroblaste est complètement développé.

irritation ou de la dégénérescence, n'est pas, pour autant, un macrophage proprement dit. On admet, en effet, que les fibrocytes puissent amasser le trypano-bleu et, éventuellement, phagocyter ; mais on constate que ces propriétés ne sont pas comparables en intensité à celles des histiocytes, qui en présentent encore d'autres plus démonstratives (1), surtout en ce qui concerne la nutrition. Toutefois, après vérification minutieuse de tous les critères requis, il devient inadmissible et peu scientifique de croire que l'on a toujours affaire à des « pseudomacrophages », selon une expression employée par FISCHER-WASELS.

Lorsque la transformation d'une cellule en macrophage s'opère par méroamitose — ce qui paraît le cas le plus fréquent dans les conditions normales — le passage de l'état initial à l'état final s'effectue pendant la durée de la multiplication ; il est plus lent, comporte des stades intermédiaires, est parfois aléatoire ou même ne s'achève pas, lorsque la reproduction fait défaut ; d'autre part, les propriétés acquises par les éléments néoformés sont stables. Il semble que la réversibilité des deux cellules, fibrocyte et histiocyte, soit plus difficile et rare, *in vitro*, que ne l'admettent W. et M. VON MÖLLENDORFF et leur école ; toutefois, cela ne préjuge pas le degré de possibilité du passage, *in vivo*. Les propriétés histiocytaires ne caractérisent pas seulement un état transitoire, traduit par un arrondissement du fibrocyte, auquel peut succéder le réétalement lié, en partie, à la digestion ou au rejet d'enclaves. La différence entre les deux catégories est plus profonde et persistante, quoique leur aspect puisse redevenir parfois voisin. La modification porte en même temps sur les fonctions et, en réalité, sur la structure intime du protoplasme. Les dissemblances nucléaires, telles que MAXIMOW, BLOOM les remarquent, sont trop schématiques pour M. VON MÖLLENDORFF. Elles sont constatées, cependant, par plusieurs auteurs (WEATHERFORD, SPADAFINA, ZWEIBAUM). Après un certain temps de multiplication, *in vitro*, les noyaux des macrophages tendent

(1) La colloïdopexie de BRATIANU et LLOMBART ne paraît pas, à elle seule, caractéristique des éléments dits réticulo-endothéliaux, comme ces auteurs le croient.

à ressembler à ceux des fibrocytes dont ils proviennent, mais des particularités autres que celles de taille et d'allure persistent (légère augmentation de la basophilie, de la densité apparente des amas chromatiques, de l'épaisseur de la membrane). Il est indéniable, en outre, qu'une variation nucléaire importante se produise pendant la transformation (basophilie très accrue, dispersion de la chromatine en masses assez fines, parmi lesquelles sont un ou deux blocs denses plutôt petits). Les chondriocotes ne peuvent caractériser le macrophage ; ils paraissent initialement moins stables que ceux du fibrocyte, ainsi que le pense WEATHERFORD (1933) ; ce fait n'est toutefois pas un indice de vitalité faible, mais résulte vraisemblablement d'un autre état d'équilibre du cytoplasme, qui est apparemment plus riche en lipines. Les dissimilitudes de la cellule vitelline et du macrophage qui en provient sont remarquablement apparentes : celui-ci ne ressemblerait que fort peu à l'élément dont il tire origine s'il n'en conservait le pouvoir de sécrétion spécifique ; de plus, il ne fait jamais retour à l'état épithélial. Notons, cependant, que son chondriome conserve en partie ses particularités (chondriocotes grêles, relativement abondants).

La transformation en fibrocytes des cellules histiocytaires ou d'origine sanguine et lymphatique est admise le plus souvent, *in vitro* (1) [voir notamment le résumé de BLOOM (1937), auquel on peut ajouter, entre autres travaux, ceux de TSCHASSOWNIKOW (1929), TANNENBERG ainsi que FISCHER-WASELS (1929), WALLBACH (1932), NORDMEYER (1932), PALMER et HIGGINS (1933), SPADAFINA (1935), J. K. MOEN (1935), CHRUSTSCHOFF (1935)]. Elle s'effectue lentement, par stades transitoires ; elle est provoquée par des artifices expérimentaux [muscle mort, FISCHER (1925) ; filtrat de sarcome de ROUS, CARREL et EBELING (1926)]. Des souches durables sont difficiles à isoler (FISCHER). MØEN obtient des fibrocytes entretenus quelque temps par passages d'un petit nombre de mononucléaires provenant de l'exsudat pleural aseptique. MAXIMOW montre que les fibroblastes d'origine leucocytaire édifient des fibres

(1) Elle est clairement analysée, *in vivo*, par DOMINICI (1920). Il décrit la métamorphose des cellules conjonctives interstitielles en fibroblastes, en vésicules adipeuses et, comme RENAUT, en éléments périvasculaires. « En se transformant en cellules fixes, les cellules interstitielles acquièrent la propriété fondamentale de ces éléments, celle de sécréter les fibrilles collagènes et élastiques. »

réticulaires et collagènes (1), ce que BISCEGLIE confirme, mais, d'après BLOOM (1931), cette possibilité n'est pas une preuve décisive de la nature fibroblastique. La remarque de BLOOM est encore mieux fondée, actuellement, puisqu'une telle propriété est dévolue même à des éléments épithéliaux purs. Il arrive que les cellules vitellines du type histiocyte constituent des colonies d'éléments fusiformes anastomosés ; ceux-ci ne sont toutefois pas stables, comme ceux du type fibrocyte provenant de la transformation progressive de l'épithélium vitellin : ils reprennent l'état de macrophage typique.

Il semble probable que des macrophages nombreux puissent provenir des fibrocytes, *in vivo*, comme le soutiennent W. et M. VON MÖLLENDORFF (nous reviendrons sur ceux d'origine épithéliale). BLOOM (1931) estime que les fibroblastes ne peuvent pas constituer une source importante de polyblastes, parce que leur nombre, ainsi que celui des macrophages, dans le tissu conjonctif lâche, est beaucoup trop faible — en l'absence de division cellulaire — pour donner naissance à la quantité énorme des polyblastes. *Les recherches exposées dans ce travail font considérer, bien au contraire, que l'absence de division cellulaire est le cas le moins habituel, lors de la transformation. Plusieurs éléments du type histiocyte résultent d'un seul fibrocyte par méroamitose ; il en provient un nombre considérable des cellules vitellines. Si la méroamitose transformatrice se produit in vivo, lors de l'inflammation, — ce qui est vraisemblable, — de nombreux histiocytes peuvent naître d'une quantité limitée de fibrocytes : ce processus assure, beaucoup plus que l'amitose proprement dite, invoquée par une série d'auteurs, une prolifération abondante.*

Les macrophages provenant du sang sont identiques à ceux des tissus (CARREL et EBELING, 1926). Qu'ils soient formés par les fibrocytes du cœur ou par la cellule vitelline, ils ont la même structure (à part quelques fines différences cytologiques) et les mêmes propriétés physiologiques générales, tant qu'ils sont en multiplication caryocinétique

(1) Ceux provenant des endothéliums vasculaires (H. HERZOG et SCHOPPER, 1930) et, éventuellement, de l'endothélium hépatique (EPHRUSSI, 1930) font de même.

fréquente. On ne peut alors, sans investigations spéciales, les reconnaître les uns des autres, ou de ceux d'une origine différente.

La plupart des histologistes voient actuellement dans le macrophage, un état fonctionnel de diverses cellules d'origine conjonctive ; un élément épithélial glandulaire, comme la cellule vitelline, prend aussi cet état. Il ne semble pas que la différenciation des fibrocytes puisse être suffisante pour aboutir, dans tous les cas, à l'irréversibilité en histiocytes, *du moins expérimentalement, in vitro, et dans des conditions favorables* ; de telles circonstances sont, toutefois, assez rares spontanément. On constate la possibilité de transformation, dans les cultures, de tout fibrocyte vrai et non seulement des cellules migratrices quiescentes. De même, il ne paraît pas qu'il y ait, par exemple, de cellule vitelline épithéliale irréversible. Cette possibilité de transformation en éléments du type histiocyte de plusieurs cellules, encore douées, en général, d'un certain potentiel embryonnaire, mais pouvant témoigner d'une fonction élaboratrice spécifique, semble dépendre surtout de leur état présent, acquis ou modifié par l'expérimentation, par des incitations réactionnelles ou pathologiques comme l'inflammation.

Bien que la différence de provenance soulève des difficultés théoriques et terminologiques, il n'est pas possible, en ce qui concerne le classement des formes, de faire de distinctions entre les cellules macrophages conjonctives et entoblastiques. Les deux catégories prennent trois aspects réversibles : macrophage typique, arrondi, entouré complètement d'une large membrane ondulante ; cellule très allongée ou munie de grands prolongements minces, parfois ramifiés, au bout desquels apparaît un voile hyaloplasmique ; enfin, cellule arrondie ou faiblement allongée, pourvue d'une membrane ondulante, mais émettant un ou quelques prolongements courts. Celle-ci est l'intermédiaire principal entre les deux premières catégories ; c'est aussi la forme de multiplication durable par caryocinèse.

EPHRUSSI (Voir p. 460), comme d'autres travailleurs, ne fait pas de

différence entre elle et l'élément ramifié ; il ne distingue que le macrophage rond et la cellule clasmatoctyiforme. Bien qu'il existe toutes les transitions entre ces deux états (W. et M. LEWIS, etc.), une telle schématisation paraît trop absolue, d'après les résultats physiologiques. Cette cellule libre est mobile, elle reste fonctionnellement équivalente au macrophage proprement dit ; elle n'est nullement comparable à un élément quiescent. Cependant, on ne devrait pas non plus la désigner seulement par le terme imprécis de macrophage, puisqu'elle représente une modification soit de l'élément rond, soit du clasmatoctyte. Elle est homologuée à un histiocyte actif ou mobilisé, expression employée par plusieurs histologistes (les dénominations d'histiocyte fixe et d'histiocyte mobile ont été proposées par S. GRÄFF, 1918). L'appellation de macrophage devrait être exclusivement réservée à la cellule ronde entourée d'une large membrane ondulante (celle qui est analogue au choanoleucocyte) ; cette structure ne permet pas, en général, la multiplication. Quand l'élément histiocytaire actif reste au voisinage des fibrocytes ou des cellules vitellines non transformées, ou lorsqu'il a émigré et s'est infiltré dans une région épithéliotypique d'une culture d'entoblaste, — ce qui est particulièrement démonstratif, — ou encore dans d'autres conditions (formation d'un agglutinat, d'un réticulum, etc...), il devient clasmatoctyiforme par allongement, ramification ; dès lors, c'est un histiocyte fixe, une cellule migratrice quiescente qui, cependant, peut continuer à se multiplier par caryocinèse.

Les cellules histiocytaires néoformées, in vitro, par les fibrocytes et par l'épithélium vitellin sont donc comparables aux catégories réversibles suivantes : 1° macrophage proprement dit ; 2° histiocyte actif ou mobilisé ; 3° histiocyte quiescent ou cellule clasmatoctyiforme.

E. FAURÉ-FRÉMIET (1925-1934) rapproche des changements réversibles de la forme (qu'il désigne comme état quiescent ou passif, et comme état actif) observés chez certaines Amibes et chez les amibocytes de divers Invertébrés, les transformations des « cellules migratrices au repos de MAXIMOW, immobiles dans le tissu conjonctif, ou même intégrées dans des formations réticulaires, parfois caractérisées par des structures internes et dont on sait qu'elles se transforment en macrophages activement mobiles et phagocytaires, identiques aux choanoleucocytes ». Or, le choanoleucocyte est considéré comme une forme prémortelle d'altération des amibocytes, mais seule capable, néanmoins, d'exercer le pouvoir phagocytaire. CHLOPIN (1931) admet que les exemples de réversibilité fournis par DE HAAN sont parfaitement analogues à ceux qu'offrent les amibocytes. Mais il pense qu'il n'en est pas de même, d'après

divers travaux, du tissu inflammatoire des Invertébrés, lorsque celui-ci est formé depuis longtemps (il devient très stable, en effet, dans les tumeurs de *Nereis diversicolor*, ANDRÉ THOMAS, 1930) et surtout des éléments conjonctifs fixes des vertébrés. Si on n'attribue l'état actif qu'à une cellule analogue à un choanoleucocyte, le macrophage rond à membrane ondulante est seul à cet état. Mais, en culture, l'histiocyte mobilisé, qui est différent du choanoleucocyte, est, fonctionnellement au moins, aussi actif que le macrophage proprement dit (la cellule ronde pour W. VON MÖLLENDORFF n'est pas active) ; il a, en plus, une forte capacité de multiplication. La forme, dans certaines limites, n'est pas un critère tranché de l'état d'activité physiologique. Du reste, celle-ci persiste, alors que la structure fait déjà pressentir le passage à l'état quiescent.

Dans les colonies en pleine vitalité, ne renfermant qu'une quantité très faible d'extrait d'embryon, le macrophage rond existe à côté de l'histiocyte actif ; il peut demeurer aussi parmi les histiocytes quiescents, alors que la multiplication est arrêtée. En milieu liquide, dans le sérum pur, les cellules naissant des fibrocytes adoptent aussitôt l'aspect de macrophages ronds à large membrane ondulante, forme qui reste prédominante. Lorsque les éléments néoformés constituent des plasmodes, ils redeviennent libres sous l'aspect rond ou légèrement allongé. Cette structure est, de même, conservée par les macrophages vitellins qui ne se multiplient plus et élaborent leurs grains de sécrétion. En somme, si l'allure générale des cellules histiocytaires dépend de la nature du milieu, il est nécessaire d'admettre qu'elle est déterminée aussi par des facteurs inhérents à chaque élément, par suite, probablement, de leur métabolisme particulier. L'accroissement de la concentration de l'extrait embryonnaire dans les cultures semble révéler, principalement, le degré de sensibilité ou d'intolérance à ce produit des variétés de cellules du type histiocyte. Mais il est un moyen plus sûr, s'il est applicable, pour caractériser leurs différences spécifiques : c'est l'exploration des fonctions de sécrétion. Toutefois, le seul exemple connu jusqu'ici de la persistance de la sécrétion figurée, chez un élément glandulaire passé à l'état histiocytaire, est celui de la cellule vitelline.

B. — Aspect physico-chimique.

Les faits observés lors de la transformation des cellules en éléments du type histiocyte suggèrent que tout se passe comme si l'on assistait au déclenchement et à l'accomplissement d'une réaction. L'apparition de la structure épithélioïde,

dans les colonies de fibrocytes, peut annoncer le phénomène comme M. VON MÖLLENDORFF le pense et traduire, peut-être, un abaissement de la tension superficielle. Si l'action du trypano-bleu suffit parfois à accélérer la transformation des cellules ainsi disposées, comme nous l'avons vu, cette modification — qui survient du reste spontanément — n'est pas toujours suivie d'une création d'histiocytes. Le fait que le protoplasme aréolaire de l'élément générateur redevient homogène et plus fluide dans la jeune cellule, pendant la méroamitose (on le dirait plus riche en liquide), l'émission de lobopodes, les variations que subissent les lipines — apparemment modifiées dans leurs liaisons avec les protéines —, l'accroissement de la basophilie, les processus nucléaires indiquent un remaniement profond (1). L'apparition d'une structure et de fonctions nouvelles (notamment le pouvoir de synthèse à partir du sérum) témoignent, chez l'histiocyte, d'un bouleversement complet, sorte de rajeunissement. Celui-ci est loin d'être seulement le résultat d'une modification de la tension superficielle. Du reste, les substances agissant de cette façon, utilisées fréquemment (FISCHER et LASER, KATZENSTEIN et E. KNAKE, E. KNAKE, H. L. WOLFF, PFEIFFER, ANDRÉ THOMAS, etc.), ne suffisent pas à provoquer la transformation en éléments histiocytaires authentiques et stables. D'autre part, les cellules deviennent plus réductrices : les groupements sulphydrilés insolubles qui réapparaissent chez des fibrocytes, lors de la méroamitose transformatrice, proviennent, vraisemblablement, de la dénaturation des protéines (p. 523).

FAURÉ-FRÉMIET considère le passage rapide de l'état quiescent à

(1) Chez le fibrocyte en transformation, l'augmentation apparente des lipines (véritable démasquage physiologique) et de la basophilie survient après la période de groupement des chondriosomes dans l'endoplasme. On peut se demander si les lipines ne proviennent pas, en partie, de celles du chondriome, comme cela est supposé lors de la formation des chromolipines. L'augmentation de la phase lipinique, la diminution de la phase protéique sont considérées comme constantes dans le macrophage cancéreux par ZWEIBAUM (1933). SEKI (1935-1937) note la richesse des histiocytes en substances basiques ou potentiellement basiques, ce qui paraît en rapport avec la propriété d'accumuler les colorants acides.

l'état actif comme un changement thixotropique correspondant à la « solation » d'un protoplasme gélifié et rigide. Ces transformations complexes, qui n'atteignent pas les caractères spécifiques essentiels de la cellule, s'accompagnent, dans le cas des amibocytes des Annélides *Nephtys* et *Arenicola*, de la libération de radicaux — SH protéidiques. Ceux-ci ne semblent pas intervenir au cours de la variation ; l'auteur suppose qu'ils proviennent de la dénaturation par action mécanique ou photochimique de quelques protéines cellulaires. Sans doute, un vrai système thixotropique doit être « capable de passer, par agitation mécanique, de l'état rigide à l'état non rigide et de revenir par simple repos à l'état rigide » (J. DUCLAUX). Pour T. PETERFI (1934), un changement thixotropique du protoplasme doit être complètement réversible et indépendant d'influences chimiques. C'est, en effet, ce qui se produit lors de la piqure brusque du protoplasme avec une aiguille. Mais on sait, par exemple, que l'adjonction d'un sel comme le chlorure ou le sulfate de sodium rend thixotropique une solution d'hydrate ferrique colloïdal ; que l'ion H est antithixotropique, tandis que l'ion OH sensibilise le sol vis-à-vis des sels qui le rendent thixotropique. A côté des formes caractéristiques de thixotropie, on doit citer des formes imparfaites ou larvées, dans lesquelles les caractères subsistent plus ou moins déformés (J. DUCLAUX). La gélatine, par exemple, à basse température, a une viscosité thixotropique.

On peut interpréter le passage des cellules du type histiocyte quiescent à celles du même élément mobilisé, aussi bien qu'à celles du type macrophage proprement dit (seul comparable au choanoleucocyte) comme analogue, physiologiquement, au passage réversible à l'état actif des Amibes ou des amibocytes d'Invertébrés. Toutefois, la transformation de la cellule-souche (fibrocyte, cellule vitelline) en élément hystiocytaire actif est d'une interprétation plus difficile. Elle se rapproche du passage état quiescent — état actif de FAURÉ-FRÉMIET par plusieurs aspects (ANDRÉ THOMAS, 1934-1937) ; il faut reconnaître, cependant, qu'elle en diffère nettement par d'autres ; elle paraît beaucoup plus compliquée. Ce phénomène représente bien un changement d'état du protoplasme, portant, le plus souvent, sur une partie du matériel cellulaire pendant la méroamitose : il rappelle des formes imparfaites de thixotropie : il se traduit dès le début par la libération de groupements sulphydrilés fixes provenant vraisemblablement d'une dénaturation

physiologique des protéines protoplasmiques. Mais cette variation n'est pas rapide et se poursuit par étapes, jusqu'à la transformation totale de la cellule originelle (1).

(1) Ces comparaisons n'ont toutefois pas de valeur explicative. Le bouleversement profond de la structure (il ne s'agit pas seulement d'un passage temporaire et réversible de gel en sol, comme on en connaît d'autres exemples dans le protoplasme) et des fonctions générales, pendant la transformation à l'état histiocyttaire, est sans doute accompagné de plusieurs autres modifications physiques et chimiques. Il est très vraisemblable, par exemple, que le point isoélectrique passe à un autre niveau d'équilibre ; le pH intérieur varie probablement ; ces déplacements importants doivent être réversibles (les histiocytes ont normalement une charge électrique négative faible : SEKI, 1935). On peut se demander, d'autre part, s'il n'y a pas, au cours du phénomène, échange de cations (p. 381). Il convient de se rappeler, en outre, qu'une dispersion plus fine des colloïdes cytoplasmiques est liée au remaniement provoqué par la fécondation ou l'activation, chez l'œuf de l'Oursin, et qu'il y a, à ce moment, production d'un acide fixe, naissant au cours de réactions anaérobiques et disparaissant par oxydation (J. RUNNSTRÖM, 1930, 1933).

CHAPITRE III

Résumé d'essais biochimiques sur la transformation expérimentale en cellules du type histiocyte.

Des produits provenant du catabolisme des protéines, ou des substances de déchet en général, ont été plus ou moins explicitement considérés comme agissant sur la forme des cellules, ou même sur leur transformation en éléments histiocytaires (CARREL et EBELING, 1926 ; DE HAAN, 1928 ; PARKER, 1932). Les travailleurs qui ont tenté de provoquer expérimentalement cette transformation ont utilisé les substances les plus diverses (p. 459). Il paraissait difficile de dégager de leurs investigations un plan directeur de recherches. Il a semblé logique d'essayer, tout d'abord, de reproduire sur un matériel favorable des réactions analogues à celles qui se déclenchent spontanément. Une base simple comme la soude a été choisie, initialement, pour plusieurs raisons. Ensuite, suivant les hypothèses de travail suggérées par les résultats obtenus, d'autres corps chimiques ont été essayés de proche en proche. L'exposé de ces recherches a déjà été publié ailleurs (1935-1936) ; nous ne ferons que les résumer brièvement.

Des essais préliminaires portent sur des cultures en croissance ralentie de fibrocytes issus du cœur. Ils montrent qu'une goutte de soude à M/100 dans le liquide de RINGER, ajoutée une fois la multiplication terminée, provoque parfois la transformation en histiocytes ; ou bien, il arrive que ce phénomène se produise seulement après un nouveau passage dans les conditions normales. Mais l'irrégularité des résultats obtenus, quoique de nombreuses cultures aient été traitées, ôte presque toute valeur à un pourcentage des cas positifs. Une notion cependant est retenue : l'action de la soude fait apparaître dans les cultures des radicaux —SH protéidiques révélés par la réaction au nitroprussiate de sodium ; mais, parmi celles-ci, quelques-unes seulement subissent la transformation en histiocytes. La libération de ces radicaux n'est donc qu'un des aspects d'un phénomène complexe. On peut invoquer aussi bien, entre autres, des réactions touchant les lipides. Il convient, d'autre part, d'expérimenter sur un matériel plus favorable que les fibrocytes.

Le fait que les cultures d'épithélium vitellin donnent, avec grande netteté, près de 3 p. 100 de transformations spontanées en cellules du type histiocyte, lorsque la croissance est terminée et que les cellules digèrent leur vitellus, conduit à rechercher si une substance, précisément libérée lors de la digestion du vitellus, ne permet pas de provoquer expérimentalement cette transformation.

Les cultures pures d'épithélium vitellin, traitées à la fin de leur croissance en flacon, le septième jour, après lavage, par 0^{cc},5 de solution de produits chimiques purs, à une dilution optima déterminée par l'expérience, sans autres substances pouvant apporter des cellules étrangères, sont très favorables à une analyse. Chaque colonie est observée au moins sept jours après l'intervention. Le pourcentage du nombre des cultures où apparaît la transformation (à partir d'un nombre quelconque de cellules, puisque le phénomène se propage d'habitude), par rapport à celui des préparations, exprime l'activité du produit utilisé. Il a été nécessaire d'analyser 642 cultures pures en flacon, chaque expérience durant quatorze jours.

Des bases comme la soude et la potasse (employées à M/100 dans des conditions définies) sont actives dans une certaine mesure, mais inégalement (soude : 32 p. 100, potasse : 12 p. 100 de transformations). La baryte et des acides (chlorhydrique, lactique) semblent inactifs. La soude n'agit-elle que par modification de l'équilibre physico-chimique du protoplasme (*pH*, tension superficielle) ? Ne fait-elle que réaliser des conditions de *pH* favorables à l'activité de diastases lipolytiques, servant normalement à la digestion du vitellus dans la cellule ? Une substance est-elle libérée ? Les bases peuvent agir en saponifiant en partie le vitellus des cellules vitellines. Or, la soude et la potasse forment des savons solubles dans l'eau, mais pas la baryte. On peut penser à l'action d'un savon hydrosoluble. Mais l'oléate de sodium (à M/400 et M/500) ne donne que 20 p. 100 de transformations. Son action se ramène-t-elle en partie à celle de la soude ? Le cholestérol en suspension dans l'oléate de sodium, le chlorhydrate de palmitylcholine, un complexe émulsionnant très énergique, ne provoquent que la dégénérescence. Il semble, pourtant, qu'une substance libérée soit en cause : *les liquides des cultures qui, après traitement à la soude ou à la potasse, ne se sont pas transformées — ils ne contiennent donc pas de cellules histiocytaires — sont repris, centrifugés et utilisés sur d'autres cultures. Le pourcentage des transformations passe alors à 53 p. 100.* De plus, cet enrichissement probable des liquides sodiques ou potassiques correspond, par suite du métabolisme des colonies, à un certain abaissement de leur *pH* qui amène celui-ci vers 8,1 (le *pH* étant au début de la croissance de 7,7), ce qui indiquerait que la soude et la potasse n'agissent pas surtout par alcalinisation du milieu. Un produit de transformation des lécithines est-il en cause ? La lysocithine, ou anhydride de l'éther monopalmite-phosphoglycérique de la choline, produit très hémolytique résultant de l'action phosphatidasique du venin de *Cobra* sur les

lécithines, donne (à la dose de 25 à 30 γ par culture) 33 p. 100 de transformations.

S'agit-il, alors, d'un corps provenant de l'hydrolyse des lécithines ? Dans les expériences qui suivent, la seule variation est la présence de solutions de corps chimiques purs, à des dilutions optima ne modifiant vraisemblablement pas le pH. Le chlorure de choline (à M/500 — M/800) donne 53 p. 100 de transformations. Ce résultat paraît suggestif. Deux esters de choline, physiologiquement très actifs, doivent être employés à des concentrations inférieures à celle de la choline ; ils ont une activité nettement plus faible que celle-ci : le chlorure de carbaminoylcholine (à M/1500 — M/2000) donne 30 p. 100 de transformations, le chlorure d'acétylcholine (M/830 — M/1660) en donne 25 p. 100. Enfin, un dérivé par oxydation de la choline comme le chlorhydrate de bétaine (à M/500 — M/800) et un dérivé final de la dégradation de la choline, comme le chlorhydrate de triméthylamine (à M/800), donnent 18 p. 100 de transformations. Si l'on prend un corps très proche de la choline, comme le bromure de neurine (à M/500 — M/800), le pourcentage remonte à 50 p. 100.

CORPS PURS EMPLOYÉS.			NOMBRE DE cultures traitées.	NOMBRE de cultures transformées.	POUR 100 DES transformations.
$ \begin{array}{c} \text{CH}^3 \\ \\ \text{CH}^3 - \text{N} - \\ \\ \text{Cl} \\ \\ \text{CH}^3 \end{array} $	-CH ² -CH ² OH	-choline	26	14	53
	-CH ² -CH ² -O- $\overset{\text{NH}^2}{\underset{\cdot}{\text{C}}}=\text{O}$	-carbaminoylcholine	23	7	30
	-CH ² -CH ² CO ² CH ³	-acétylcholine	28	7	25
	-CH ² -CO ² H	-bétaine	11	2	18
	-H	-triméthylamine	16	3	18
	-CH = CH ²	-neurine	16	8	50
	-CH ² -CH ³	-triméthyléthylammonium	22	13	59
	-CH ²	-tétraméthylammonium	34	15	44

TABLEAU 7. — Activité de corps à groupement ammonium quaternaire (indiqué à gauche) sur la transformation en cellules du type histiocyte des cultures pures d'épithélium vitellin en flacon CARREL. (La neurine a été employée à l'état de bromure.)

Un groupement chimique est commun à cette série de corps, actifs à des degrés divers : c'est le groupement ammonium quaternaire (lire le tableau). Un corps voisin de ceux qui viennent d'être cités, l'alcool ami-

no-éthylrique ou amino-éthanol, est inactif ; or il n'a pas le groupement ammonium quaternaire. Mais d'autres n'agissant que par ce groupement sont-ils actifs ? Le chlorure de tétraméthylammonium (à M/500 — M/800) donne 44 p. 100, et le chlorure de triméthyléthylammonium (à M/800 — M/1000) donne 59 p. 100 de transformations.

Toutefois, cette action semble bien limitée aux ammoniums quaternaires du groupe de la choline. Pensant que l'activité des corps utilisés dépendait peut-être de l'allongement de la chaîne latérale, on a utilisé le chlorure de triméthyl-octylammonium (de M/800 à M/2 000) : il est inactif. Enfin le chlorure de tétraamylammonium (de M/800 à M/4000), dont la structure ne correspond du reste plus à celle du schéma général des corps considérés, est également inactif.

Mais, lorsque les cellules vitellines ont évolué quelque temps *in vitro* et qu'elles prennent la forme et des propriétés analogues à celles des fibrocytes, elles deviennent, quoiqu'elles continuent à sécréter un produit comparable au vitellus (dont la quantité est toutefois très inférieure à celle contenue dans les éléments épithéliaux), très difficilement transformables. La structure et l'état physiologique des cellules, au cours de leur évolution, ont certainement une importance dans ces phénomènes.

Discussion générale.

Il reste, comme complément aux discussions précédentes, à grouper quelques faits généraux, à essayer d'en dégager brièvement la signification et à faire mention des hypothèses qu'ils suggèrent.

1. — SUR L'ÉTAT CELLULAIRE.

Les éléments individualisés provenant de la cytulation du syncytium vitellin reconstituent, au cours de leur évolution *in vitro*, des plasmodes (ou symplastés) et des syncytiums ; ils peuvent se libérer ultérieurement de ces formations et reprendre leur vie autonome. Il arrive que les fibrocytes du cœur forment, de même, des amas symplastiques et syncytiaux. lorsqu'ils passent spontanément à l'état histiocyttaire : le matériel cytoplasmique indivis est en remaniement, jusqu'au moment où les cellules se séparent une à une (1). Ces phénomènes sont en rapport avec les trans-

(1) Le fractionnement en cellules de masses protoplasmiques polyénergides est bien connu chez les Protistes et les végétaux (c'est, d'après la terminologie de CHATTON, la syntomie ; la dystomie résultant de l'inhibition du cloisonnement).

formations subies par le protoplasme ; ils ne traduisent pas seulement le résultat direct d'une sous-oxygénation des cultures ou de l'action du milieu, comme le remarque W. LEWIS (1928), à propos de l'origine des cellules géantes. La fusion secondaire vraie semble dépendre principalement de facteurs propres liés à l'état physico-chimique et au métabolisme de la matière vivante normale. Cette disposition est parfaitement compatible avec la reprise de l'individualité spécifique. On peut donc supposer que celle-ci existe à l'état potentiel, ainsi que dans les formations habituellement syncytiales (G. LEVI). La structure indivise, souvent discutée, décrite dans le tissu conjonctif principalement par MALL (1902), DOMINICI (1920), qui voit la reformation des cellules libres à partir des plasmodes et des syncytiums, HUECK (1920), HERINGA (1926), VON MÖLLENDORFF (1926), RUBASCHKIN et BESUGLAJA (1932), STUDNÍČKA (1934), etc., paraît fréquente (1). Elle permet la multiplication amitotique et méroamitotique. La cellule libre n'est qu'une forme d'organisation du protoplasme pour RUBASCHKIN et BESUGLAJA. Dans un remarquable exposé général, PETERFI (1937) déclare que la doctrine cellulaire du siècle passé a besoin d'une révision. Il semble que la cellule, dans les tissus somatiques fixes, représente un état d'individualisation surtout en rapport avec la reproduction caryocinétique, mais que d'autres modes de répartition du protoplasme ne soient pas rares.

Les éléments du type histiocyte sont parfois de tailles notablement inégales au moment de leur naissance, surtout ceux qui proviennent de la transformation de l'épithélium vitellin, mais ils régularisent le plus souvent leurs dimensions lorsqu'ils prolifèrent ; ils s'hypertrophient quand leur multiplication est ralentie. Les cellules vitellines, dans les colonies épithéliales, offrent des différences de volume très importantes, vraisemblablement par suite de leur surcharge deutoplasmique. Le rapport nucléoplasmique paraît à peu près maintenu, en général, chez les divers éléments, si l'on tient compte toutefois, comme BERGMANN (1932) en constate la nécessité, de la phase de la vie cellulaire et de la grandeur abso-

(1) ROBINOW (1937) voit que les cultures épithéliales (intestin embryonnaire du Poulet et médullo-rénale du Lapin adulte) ont une structure syncytiale dans la profondeur (G. LEVI admet que les limites cellulaires, existant en général, disparaissent parfois complètement). — G. LEVI et H. MEYER (1937) pensent, à la suite d'expériences sur les cultures de tissu nerveux, qu'il y a réellement, dans quelques cas, continuité matérielle entre neurones différents. VILTER (*in discussion*) fait remarquer que la continuité transitoire de deux cellules se produit entre le mélanocyte rameux intraépithélial et la cellule malpighienne cutanée ; la première passe à la seconde sa graine pigmentaire. Mais cette liaison cytoplasmique n'est pas durable. Dans notre cas, il ne s'agit pas seulement du transit de corps figurés, mais, vraisemblablement, d'après l'évolution prolongée à l'état vivant, de fusion véritable.

Je signale, en outre, dans l'espoir de rendre service, un ouvrage que je n'ai pu trouver à Paris : ASCHOFF, L. : *Das Leben und der Zellenstaadt* (*Freiburger wiss.-ges.*, 1934, H. 24. Freiburg i. Br., Verlag Speyer et Kæsser.

lue du noyau. Les phénomènes de clasmatose observés tendent probablement à assurer, mais d'une manière discontinue, la constance relative de cette caractéristique, lorsqu'elle est fortement déplacée en faveur du cytoplasme (ce qui est le cas, dans une certaine mesure *in vitro*, d'après LEVI et DOGLIOTTI). Il se peut que la multiplication méroamitotique satisfasse, en partie, les exigences des relations noyau-cytoplasme ; toutefois, la classification des divers stades nucléaires, selon un ordre de croissance rythmique, pendant la période de méroamitose, paraît une entreprise assez vaine. Les travaux de JACOB sur l'accroissement des noyaux par doublement de volume — dont le point de départ (1925) est la théorie de M. HEIDENHAIN sur la division des protomères — sont fréquemment confirmés par les auteurs. Cependant, bien des cas de fluctuation considérable de la taille nucléaire sont signalés (1). Celle-ci est due, probablement, à plusieurs causes pour WERMEL et IGNATJEWA (1932) ; l'accroissement de la taille, *in vitro*, étant du reste important parce que non soumis à la même régulation que dans l'organisme. D'après FREERKSEN (1933), les noyaux de la plupart des tissus, chez le Cobaye et le Lapin, peuvent être classés en neuf groupes définis selon leur grandeur ; cependant, la croissance — due à une augmentation vraie de la substance nucléaire — et la division sont, d'après lui, toujours soumises à des lois volumétriques déterminées. E. GRYNFELT (1937), confirmant W. ERICH (1936), note que les noyaux d'un même organe varient d'une façon non négligeable au cours de leur fonctionnement. PETERFI (1937) rapporte à trois facteurs biologiques les fluctuations du volume cellulaire total des Amibes, mesuré directement à l'état vivant : l'âge de la culture, les variations individuelles, la valeur de la taille avant et après la division, les deux cellules-filles étant égales ou non. Dans la discussion du travail de PETERFI, E. RIESS admet que beaucoup de cellules tissulaires peuvent s'agrandir plusieurs fois, au cours de leur développement ontogénétique et qu'en ceci elles ne sont pas absolument comparables aux Protistes ; pour G. LEVI, les courbes de PETERFI prouvent que la supposition de HEIDENHAIN-JACOB n'est pas plausible, la taille des cellules suivant la variabilité des fluctuations. Remarquons, en effet, que les mesures effectuées ne peuvent avoir de signification générale

(1) COLLIN et FLORENTIN (1935) se demandent si, dans les cas où se vérifient les idées de HEIDENHAIN-JACOB, un facteur de croissance, non réglé par la division, ne provoque pas une augmentation volumétrique du noyau, équivalente à une polyploïdie somatique. Ce noyau peut en engendrer ensuite d'autres, diploïdes. GRUJIC, COLLIN et GRUJIC (1931) montrent, en effet, que les noyaux géants (glandes de LÖWENTHAL du Rat) donnent naissance à des bourgeons dégénératifs et à des noyaux diploïdes réguliers, sorte de réduction quantitative du matériel chromatique ; en même temps, une fonte partielle du cytoplasme se produit. La régulation amitotique, qui est normale, peut donc comporter des stades d'involution, tandis qu'une partie du matériel assure la continuité de la cellule. Il n'y a pas de différence nettement tranchée entre les noyaux géants normaux et pathologiques.

que si elles portent sur de grands nombres (au sens mathématique du terme), ce qui n'est pas le cas. La formation et le développement des petits noyaux, comme mode normal possible de prolifération, est, pour la théorie de la croissance rythmique, une cause d'erreur grave. De plus, les noyaux néoformés, encore petits, peuvent être eux-mêmes le siège d'une méroamitose transformatrice.

2. — SUR LE PASSAGE A L'ÉTAT HISTIOCYTAIRE.

Deux faits méritent d'être retenus : la formation de cellules du type histiocyte par un tissu épithélial pur entoblastique ; le déclenchement de ce phénomène par des ammoniums quaternaires du groupe de la choline.

La phagocytose normale ou réactionnelle de quelques catégories d'épithéliums, *in vivo*, est connue (citons, entre autres cas, celui des cellules ectodermiques de la glande mammaire en lactation : BRATIANU et GUERRIERO, 1930). LEO LOEB (1898-1902) constate cette activité chez des cellules épithéliales transplantées. Plusieurs auteurs signalent ensuite que de tels éléments cultivés ont la capacité de devenir phagocytes [CHAMPY, 1914 ; MATSUMOTO, 1918 ; MATSUMOTO et ISHIMARU, 1922 ; CHLOPIN, 1923-1924 ; ISHIKAWA et SHIMOMURA, 1926 ; MJASSOJEDOFF, 1925 ; ISHIKAWA, 1926 ; KAPEL, 1929, qui les nomme *macrophages épithéliaux* (cultures du cerveau) ; TSCHASSOWNIKOW, 1929 ; CHLOPKOW, 1931 ; PINKUS, 1931 (cultures de pancréas) qui obtient des cellules comparables aux macrophages de KAPEL ; CHLOPIN, 1930, etc.]. Laissant de côté, pour le moment, des questions qui ne touchent pas directement au sujet : fonction de l'oligodendrogliose, formation de macrophages par les cellules mésothéliales, histiocytes épithélioïdes (HAMAZAKI), etc., nous rappellerons les grandes lignes de la controverse sur l'origine des phagocytes du revêtement du poumon.

La nature conjonctive des histiocytes pulmonaires des Mammifères, après la naissance, est soutenue, à la suite d'autres chercheurs, par LANG (1925), POLICARD (1926), BLOOM (1927), etc... Elle est supposée ou affirmée récemment encore par TSCHISTOWITSCH (1930-1935), qui fait un exposé bibliographique, ROBB-SMITH (1936), et, chez la Poule embryonnaire et adulte ainsi que chez le Cobaye, par SCHOPPER (1935, 1937). BARGMANN fait remarquer à ce dernier que le comportement des cellules émigrées, dans les explants pulmonaires, ne permet pas de se prononcer sur la provenance histologique. Les recherches embryologiques de FAURÉ-FRÉMIET et DRAGOIU confirment l'opinion classique de l'origine entoblastique de l'épithélium alvéolaire fœtal chez les Mammifères ; les expériences histophysiologiques de GUIEYSSE-PELLISSIER montrent,

notamment, que la paroi entoblastique des capillaires aériens des Oiseaux est constituée par des cellules mobilisables dont les réactions sont celles des éléments histiocytaires. Elles n'ont pas, cependant, la propriété colloïdopexique d'après BRATIANU et GUERRIERO (1930). BOUIN admet qu'elles sont physiologiquement des histiocytes, la notion que l'attribut phagocytaire appartient aux seuls éléments mésoblastiques étant discutable. BUSINCO et GIONTI (1930) ne peuvent décider si les « pneumocytes » sont épithéliaux ou mésenchymateux. WENSLAW (1930-1934) montre que l'épithélium pulmonaire des Mammifères, normalement discontinu, du moins en apparence, reprend dans certaines conditions, son aspect embryonnaire à une couche continue et phagocyte. Toutefois, si les histiocytes jouent le rôle principal chez les Oiseaux, les cellules épithéliales, chez les Mammifères, ont des caractères qui les font nommer « éléments pseudo-histiocytaires ». D'après G. LEVI (1934), les travaux de DOGLIOTTI et AMPRINO (1932), poursuivis dans son laboratoire, témoignent contre les affirmations de LANG. Les auteurs admettent qu'une partie de l'épithélium alvéolaire fœtal se résorbe, mais des îlots des cellules épithéliales cubiques persistent, n'absorbant pas ou à peine les colorants vitaux acides. Les éléments alvéolaires sont épithéliaux ; ils s'isolent (épicytes) et deviennent binucléés par endoamitose, ou géants (M. CLARA, 1936). Le tissu pulmonaire donne des cultures épithéliales à propriétés macrophagiques, étudiées principalement chez les Mammifères embryonnaires et adultes par CARLETON (1923-1925) et observées aussi par TIMOFEEVSKI et BENEWOLENSKAJA (1925), BINET et CHAMPY (1926). Il en est de même du tissu des bronches, STRELIN (1930, Lapin de deux à trois mois), ou du poumon embryonnaire de la Poule. Dans ce cas (VERNE, 1932), les cellules épithéliales phagocytent l'encre de Chine et fixent le carmin lithiné ; elles acquièrent donc une fonction colloïdopexique (ce qu'elles font, *in vivo* dans l'inflammation) ; l'origine épithéliale des éléments libérés est, pour l'auteur, hors de doute. BLOOM (1937) reconnaît que les cellules épithéliales isolées se transforment parfois en phagocytes typiques, qui ne peuvent être distingués des macrophages libres du tissu réticulaire, *in vitro* ; il suit cette évolution chez les cellules entoblastiques des bronchioles (embryon du Cobaye), par l'observation directe des cultures vivantes et sur coupes. En tout cas, si les histiocytes mésenchymateux participent à la formation du revêtement du poumon des Mammifères, après la naissance, il n'en est pas moins vrai que l'épithélium entoblastique peut faire preuve de propriétés phagocytaires et colloïdopexiques. Il convient, cependant, de remarquer que des cultures pures de cellules d'origine épithéliale certaine, qui ont acquis les propriétés de forme et de fonction des histiocytes (y compris le pouvoir durable de synthèse à partir de protéines du sérum) et prolifèrent activement, sont obtenues pour la première fois de l'entoblaste vitellin.

On ne peut affirmer, dans l'état actuel de nos connaissances, que des éléments épithéliaux, autres que les cellules vitellines, passent définiti-

vement à l'état histiocytaire et *continuent à proliférer en gardant leur spécificité de sécrétion*. Mais le phénomène que nous avons établi — avec la rigueur expérimentale la plus scrupuleuse — permet de considérer que cela est peut-être possible. S'il était démontré que des éléments épithéliaux sécréteurs, encore doués d'une part de leurs potentialités embryonnaires — ou les acquérant de nouveau — pussent subir cette transformation, *in vivo*, à l'occasion de procès réactionnels ou pathologiques, il serait nécessaire de modifier profondément nos conceptions du système histiocytaire. Nous avons été amenés, antérieurement, à faire l'hypothèse de travail que les cellules du type histiocyte de l'organisme sont non seulement de souches tissulaires variées, mais probablement d'origines embryologiques diverses, qu'elles gardent la possibilité d'élaborer tout comme celles dont elles proviennent et qu'elles véhiculent des produits de sécrétion utiles aux autres. Le système réticulo-endothélial (ASCHOFF, LANDAU, 1913), réticulo-histiocytaire (VOLTERRA, 1929), conjonctif-histiocytaire (R.-M. MIDY, 1936) (1), ou système histiocytaire de plusieurs histologistes (expression plus heureuse), ou encore : des cellules du type histiocytaire (G. LEVI), pourrait alors comprendre des éléments d'origine surtout mésenchymateuse, mais aussi entoblastique, gardant leur spécificité élaboratrice fondamentale, doués cependant d'un groupe défini de propriétés physiologiques et structurales acquises. Cette hypothèse de la pluralité des cellules du type histiocyte suppose l'incorporation occasionnelle d'éléments épithéliaux — transformés et libres — dans le système histiocytaire. Leur survie est du reste très plausible d'après ce qu'on sait de la résistance des macrophages en général (W. H. LEWIS, 1921 ; CHADANI, 1929 ; E.-R. et E.-L. CLARK, 1930) et de ceux de l'épithélium vitellin en particulier. On peut se demander s'il n'existe pas d'éléments d'origine épithéliale parmi les formes histiocytaires imprégnables à l'argent dans les parenchymes d'organes ; leur différenciation morphologique et fonctionnelle est très marquée selon les divers territoires. Les cellules épithéliales histiocytaires n'ont-elles pas la possibilité de passer dans le sang, puisqu'il semble qu'un échange se produise aisément entre les éléments migrants tissulaires et sanguins (HAMAZAKI et WATANABE, 1929 ; E.-R. et E.-L. CLARK, 1930) et que des histiocytes proprement dits puissent exister normalement parmi les cellules du sang (KIMURA et HATTORI, 1930) ? Précisons, en outre, que la supposition de la persistance de la sécrétion spécifique figurée ou non, chez les cellules considérées, est une conception tout à fait différente de celle de RENAUT et DUBREUIL sur le pouvoir sécréteur des cellules raghiocrines arrondies (2). L'abondance des éléments histiocytaires néo-

(1) Cette appellation, de même que la notion d'état fonctionnel des cellules mésenchymateuses, ou de « mésenchyme actif » (SIEGMUND, DU BOIS) semble préjuger, d'une façon peut-être étroite, l'origine des éléments du système, d'après les recherches qui viennent d'être exposées.

(2) Il s'agit pour J. RENAUT et G. DUBREUIL (1906) de cellules conjonctives

formés, *in vitro*, lorsque la transformation des fibrocytes ou de l'épithélium vitellin se produit par méroamitose, incite à penser que le même phénomène, s'il s'effectuait *in vivo*, aboutirait à l'apparition d'une quantité non négligeable de cellules mobiles rajeunies, douées d'un nouveau potentiel de vie, à exigences nutritives simplifiées, sécrétant des substances utiles, collaborant à la défense locale des tissus.

Le rôle des ammoniums quaternaires du groupe de la choline sur la variation de la cellule vitelline suggère qu'ils contribuent, vraisemblablement, à déclencher un changement de constitution du protoplasme chez certains éléments. Il se peut que, dans le cas du passage spontané à la nature histiocyttaire, l'hydrolyse des lécithines des enclaves de vitellus en digestion aboutisse à la libération intracellulaire de choline, mais celle-ci n'est vraisemblablement pas seule en cause. L'effet des ammoniums quaternaires, mis en évidence en 1935, est peut-être indirect ; la présence des enclaves lipoprotéiques en dégradation semble provoquer, chez certaines cellules, un état physico-chimique favorable à l'action des corps du groupe de la choline. On peut supposer qu'un produit de catabolisme sert d'intermédiaire, ce qui expliquerait que la transformation considérée survienne dans des zones d'abord localisées, puis s'étende à d'autres parties des cultures. L'isolement et l'obtention d'un tel corps serait d'un grand intérêt théorique et pratique. P. WINTREBERT (1935) insiste sur le rôle des enclaves paraplasmiques au cours des phénomènes d'induction. DALCQ et PASTEELS (1937), tenant compte des travaux de SCHLEIP et PENNERS (1928-1929), SEIDEL (1932), MOTOMURA (1935), PENNERS (1936), VINTEMBERGER (1936), OPPENHEIMER (1936), sur le rôle morphogénétique du deutoplasme, édifient une théorie physiologique des premiers stades du développement embryonnaire. Celui-ci résulte de l'interaction des substances provenant respectivement du vitellus et de la région corticale de l'œuf. Que les ammoniums quaternaires facilitent l'action du produit que nous envisageons ou en provoquent l'apparition, on est conduit à faire jouer aux enclaves vitellines en digestion avancée un rôle important, lors de la création assez fréquente par la cellule vitelline d'une série d'éléments histiocyttaires. Il est probable qu'un composé semblable se forme dans les cultures de fibrocytes lorsque ce phénomène y survient, ce qui est rare (1). Enfin, il en est sans doute de même, à partir des enclaves lipidiques, quand les cellules adipeuses se mobilisent (TAKETOMI, 1934), passent à l'état histiocyttaire (GOLDNER, 1933-1936), bien qu'elles puissent présenter un caractère syncytial (VASSERMANN ;

« spéciales actives et de fonctionnalité glandulaire, exportables dans le tissu conjonctif et y continuant un certain temps leur fonction... » « Elles élaborent, au sein de leur cytoplasme, des grains de ségrégation albuminoïdes qui prennent naissance, puis croissent et mûrissent au centre de vacuoles particulières, colorables *intra vitam* par une solution faible de rouge neutre... »

(1) Une substance analogue est vraisemblablement élaborée, *in vivo*.

K. BAUER, 1934), et qu'elles paraissent précocement et spécifiquement différenciées (HAUSBERGER, 1937).

Il se pourrait que des corps autres que des ammoniums quaternaires, contribuent à déclencher la transformation de cellules à un état favorable en éléments du type histiocyte. Cependant l'action de ce groupe chimique ne semble pas fortuite, étant donnés les résultats acquis sur la production, *in vivo*, par les terminaisons des nerfs cholinergiques (et peut-être même par le système nerveux central) d'une substance du type de l'acétylcholine ; celle-ci est bientôt hydrolysée par une estérase du sang et des tissus et libère probablement de la choline. D'autre part, cette base est produite par les glandes surrénales ; on a même opposé au système hypertenseur neuro-chromaffine un système générateur de choline (thyroïde, pancréas, ovaire, foie, rate, etc...). Nous avons été amené à concevoir (1935) que les décharges de choline dans le milieu intérieur provoquent peut-être, dans certaines conditions, des phénomènes cytogénétiques (transformation et multiplication de certains éléments susceptibles de réagir par un changement d'état de leur protoplasme). Il pourrait en être de même, *in situ*, lors de la production localisée d'ammoniums quaternaires près des plaques terminales, ou à la suite d'une hydrolyse éventuelle des lécithines.

L'état actuel du système histiocytaire dépendrait ainsi, en partie, d'un fonctionnement neurochimique (1).

3. — VARIATION ET SPÉCIFICITÉ.

Il arrive que des éléments épithéliaux s'isolent dans les cultures ; CHLOPIN (1930) insiste sur cette possibilité. Mais on admet généralement qu'ils dégèrent, à moins qu'ils ne s'associent de nouveau ; s'ils survivent, perdent-ils complètement leurs propriétés ? La cellule vitelline continue à proliférer par caryocinèse et à manifester sa fonction de sécrétion propre, bien que transformée selon les types fibrocyte ou même histiocyte ; dans ce dernier cas cependant, les éléments demeurent éloignés les uns des autres. Ces cellules sont-elles devenues vraiment conjonctives ? Non, puisque leur spécificité élaboratrice fondamentale persiste. Il ne s'agit pas seulement de différenciation (CH. PÉREZ, CHAMPY) d'adaptation au milieu (BARTA), de cataplasie (BENEKE, CRACIUN) ou d'anaplasie (VON HANSEMAN) (2), de modulation si l'on désigne par ce terme,

(1) L'hypothèse de l'action sensibilisante des ammoniums quaternaires du groupe de la choline sur le protoplasme a conduit à quelques recherches. Il n'a été publié jusqu'ici qu'un seul résultat, obtenu avec la collaboration de M. CHÈVREMONT (*C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. **123**, p. 1165-1169) : le chlorure de triméthyléthylammonium rend le thymus du Cobaye près de neuf fois plus radiosensible que celui des témoins,

(2) Ce mot est employé notamment par MJASSOJEDOFF, SPADAFINA, à propos du passage des fibrocytes à l'état d'histiocyte, par opposition à la trans-

avec WEISS, d'après BLOOM (1937), un changement réversible sans modification des potentialités, car la variation est à sens unique : les cellules vitellines modifiées ne retournent pas à l'état épithélial. Disons qu'il y a métaplasie (VIRCHOW) ou simplement transformation. On ignore si les éléments histiocytaires néoformés acquièrent des potentialités nouvelles, s'ils ont, dans des conditions particulières, la faculté d'évoluer en granulocytes, ou de produire des érythrocytes (ce qui serait fort intéressant dans le cas où ils ont une origine entoblastique) ; mais on ne peut les distinguer des macrophages et des clasmatoctes.

Au cours des années précédentes, j'ai désigné les deux catégories d'éléments vitellins transformés par les termes respectifs de fibrocyte et d'histiocyte, à cause de leurs propriétés. Puis l'obtention de structures réticulaires et collagènes dans les cultures épithéliales pures m'a fait attribuer à l'entoblaste vitellin une place particulière, entre tissus conjonctifs et épithéliums vrais, susceptible d'expliquer les évolutions cellulaires observées et de justifier les termes employés. Mais, dans la suite, les recherches de LEVI-MONTALCINI et SACERDOTE, sur l'édification de fibres réticulaires et collagènes par l'épithélium de l'iris, ont prouvé que mes résultats ne constituaient pas une exception. Il semble que l'élaboration de ces structures ne puisse plus être tenue pour un privilège des tissus d'origine conjonctive. J'ai cependant employé, dans le présent travail, les expressions seulement comparatives de : cellules du type fibrocyte et du type histiocyte (ou cellule histiocytaire), bien que le texte n'y gagne rien en élégance. Ces difficultés terminologiques proviennent du fait qu'on réserve par définition à l'histiocyte et au clasmatoctes — cellules plurivalentes — une origine seulement conjonctive et qu'on trouve, d'autre part (avec beaucoup d'auteurs : MAXIMOW, MÖLLENDORFF, etc...), l'expression de macrophage pour le moins imprécise ; elle est non conforme à la qualification morphologique et physiologique de tous les états cellulaires observés (1).

Certains critères apparents sur lesquels l'histologie s'est appuyée long-

formation habituelle inverse, ce qui suppose implicitement l'idée d'involution. Utiliser ce terme comme synonyme de cataplasie est, d'ailleurs, une impropriété étymologique. Les termes de cata- et anaplasie ont été créés en opposition l'un à l'autre à propos de processus pathologiques.

(1) Cette remarque s'applique aussi à l'expression : *formes macrophagiques* proposée par POLICARD (in discussion de mon exposé au Congrès de Copenhague, 1936). De même que le terme de fibrocyte continue à être utilisé pour désigner un ensemble de cellules fusiformes diverses, d'origine mésoblastique et mésenchymateuse, en dépit de critiques fondées, ne pourrait-on convenir d'appeler, *in vitro*, cellules épithéliales, celles qui conservent ou peuvent reprendre la structure épithéliotypique, et *épithéliocytes*, celles qui l'ont perdue définitivement ? Il ne s'agit pas d'un jeu de mot, mais d'une simplification possible dont le besoin se fait sentir ; il serait souhaitable, en tout cas, qu'on en proposât une meilleure. On dirait par exemple : les épithéliocytes vitellins peuvent être histiocytaires.

temps pour séparer les groupes de tissus selon leur origine embryologique, perdent beaucoup de leur valeur. Aux exemples connus du développement à partir de l'ectoblaste, de formations analogues à celles de provenance conjonctive, viennent s'ajouter d'autres cas que l'on ne peut considérer toujours comme exceptionnels (1). Rappelons la transformation normale de l'épithélium de l'organe de l'émail, chez le Cobaye, dont les éléments s'incorporent au tissu conjonctif, forment du collagène, puis constituent, d'après PARAT (1925), un *cartilage épithélioïde* ; ou encore, l'édification de collagène par le cristallin humain, sans lésion de sa capsule, chez l'adulte (REDSLOB, 1926) (2). BRACHET, DALCQ et GÉRARD (1935) écrivent d'ailleurs, à propos du mésenchyme : « ... Nous dirions même volontiers qu'il est un état fonctionnel de matériaux issus indifféremment de chacun des trois feuilletts. » HUZELLA (1937) pense que la substance interstitielle n'appartient à aucun feuillet. Remarquons cependant que, si l'évolution morphologique et fonctionnelle, ainsi que l'élaboration de substance dite conjonctive ne caractérisent pas d'une façon absolue l'origine embryologique d'un tissu, la théorie de la spécificité des feuilletts germinatifs subsiste dans une certaine mesure, puisqu'il semble que les

(1) D'après Karl BAUER (1934), les fibres collagènes — qui se développent directement chez l'embryon de la Poule, âgé seulement de quarante-huit heures — apparaissent dans le « tissu conjonctif épithélial » de HELD, au lieu de contact du protoplasme mésoblastique avec celui de l'ecto- ou de l'entoblaste. D'après ce dernier auteur, en effet, la fibrillogenèse résulte de la collaboration d'un constituant ecto- ou entoblastique et du mésoblaste, sur lequel les cellules épithéliales agissent probablement par émission de substances chimiques.

La néoformation d'une matière collagène par des éléments épithéliaux, dans les tumeurs mixtes, étudiée notamment par MASSON et PEYRON (1914) est souvent discutée. M. LUCIEN (1930) pense que la dégénérescence des cellules épithéliales crée un sol collagène dans lequel se différencient les fibres conjonctives [par métamorphie ; NAGEOTTE (1933) continue à préférer le terme de métamorphisme].

Il est vraisemblable qu'il ne s'agit pas, en général, dans les cas normaux et pathologiques d'une transformation vraie des épithéliums en tissu conjonctif, mais de la manifestation, par des « épithélioctes », de leur propriété d'élaborer une substance fondamentale fibrillaire.

D'autre part, H. DE WINIWARDER (1933) décrit, sous les noms de continuités et de mutations cellulaires, le passage — spatialement insensible, normal, établi dans la deuxième période de la gestation ou après la croissance — d'un tissu épithélial à un autre : en l'espèce, les dérivés branchiaux et la thyroïde « qui sont doués d'une plasticité insoupçonnée » ; « ... ils sont bien capables d'édifier du tissu d'un des autres membres de la série ; peut-être même sont-ils aptes à se remplacer ».

(2) Au cours d'expériences terminées mais non publiées encore, j'ai vérifié que le cristallin en régénération, chez le Poussin, peut élaborer des fibres dont les caractères histologiques sont ceux du collagène. L'entoblaste vitellin pur, greffé dans la chambre antérieure du Poussin, s'y transforme en un tissu fibroblastique très riche en faisceaux collagènes. Lorsque le tissu est inclus dans un sac de collodion inséré dans la cavité abdominale du même animal, les fibres se développent aussi.

cellules conservent leurs propriétés sécrétoires fondamentales et qu'elles restent ainsi chimiquement différenciées (selon l'expression de HUXLEY, 1924).

Nous voudrions essayer d'indiquer, en terminant, les difficultés d'interprétation génétique du fait que la méroamitose suffit à assurer la persistance des caractères spécifiques. Plusieurs auteurs s'accordent à reconnaître l'importance théorique de la multiplication directe au point de vue des conceptions sur l'hérédité ; mais la mode suivie par beaucoup de généticiens est de n'attacher qu'une importance très secondaire à l'amitose ou même de n'en pas tenir compte, ce qui n'est pas une attitude scientifique. Or, le patrimoine ancestral peut être maintenu, grâce à la méroamitose — sans apparition de chromosomes — par une masse de chromatine ne représentant qu'une faible partie de celle du noyau-souche et dont la localisation est du reste variable. On sait, d'autre part, que la polyploïdie somatique s'accompagne, en général d'une augmentation de la grandeur nucléaire et cellulaire (BOVERI, etc..., voir notamment C. ARTOM, 1928). CLARA (1931) retrouve un fait de même ordre. Au cours de la spermatogenèse, il peut y avoir proportionnalité entre le nombre des chromosomes et le volume du noyau (WERMEL, 1933). Inversement, on se demande si les milliers de gènes que doivent contenir les cellules vitellines (d'après les chiffres évalués par les généticiens sur leurs objets de prédilection) sont tous représentés dans les petits noyaux néoformés, et qui sont à l'origine d'éléments normaux viables ; s'il en était ainsi, ils s'y trouveraient dans des conditions fort différentes de celles existant dans les gros. Autrement dit, l'hypothèse de la pérennité des facteurs héréditaires s'applique-t-elle invariablement ? Ne peuvent-ils être spécifiquement recréés par le protoplasme ? D'autre part, pendant la méroamitose, le génome supposé n'est pas réparti dans une enveloppe chromosomique apparente. Loin de nous l'idée de négliger les remarquables résultats expérimentaux de la génétique, mais l'interprétation qui en est donnée, parfois, démontre surtout, en la circonstance, les belles qualités d'imagination de quelques auteurs. Il est bien évident que la multiplication chromosomique est la règle ; cependant, les faits difficilement conciliables avec les dogmes que les généticiens affectionnent sont assez nombreux. Le rôle important du cytoplasme, que plusieurs d'entre eux sont obligés d'invoquer, ne doit pas être sous-estimé dans les phénomènes de l'hérédité (1). Qui sait, du reste, si les théories actuellement en faveur ne deviendront pas caduques ?

On doit vraisemblablement considérer que l'ensemble de la cellule

(1) Il est établi expérimentalement, et mis en valeur dans plusieurs exposés critiques. WINTREBERT (1937) admet, à côté des *unités héréditaires mendéliennes*, une *unité héréditaire spécifique*, qui est, en somme, le protoplasme fondamental lui-même.

contribue par toutes ses parties, à des degrés divers, à l'exercice harmonieux des activités spécifiques : sécrétion (p. 394) et persistance du patrimoine héréditaire.

CONCLUSIONS DE LA QUATRIÈME PARTIE

1^o Des phénomènes analogues mis en évidence chez deux tissus très différents : l'épithélium vitellin et les fibrocytes issus du cœur, permettent de systématiser un mode de multiplication cellulaire directe : la méroamitose (1935), portant seulement, et d'une manière répétée, sur une faible partie du noyau (mérocaryodiérèse) et du cytoplasme (méroplasmodiérèse) d'une cellule-mère. Deux variétés sont distinguées : méroamitose multiplicatrice et méroamitose transformatrice. Leurs caractères respectifs, leur rôle, leur place dans la classification des divers procédés d'amitose sont analysés en détail (p. 503). La méroamitose multiplicatrice est un processus probablement limité à des tissus où la prolifération est rapide et où la caryocinèse pourrait être inhibée. Il paraît légitime de supposer que, dans l'organisme, lors de l'inflammation par exemple, de nombreux histiocytes peuvent naître d'une quantité limitée de fibrocytes par méroamitose transformatrice : ce mécanisme assure, beaucoup plus que l'amitose proprement dite, invoquée dans ce cas, une pullulation abondante.

2^o L'inhibition temporaire de la caryocinèse, dans les colonies d'épithélium vitellin, semble en rapport avec le passage dans les noyaux d'une matière lipoprotéique provenant des enclaves en digestion et dont les caractères sont indiqués. On considère, en général, que l'arrêt de la mitose peut résulter principalement, lorsque les cellules ne sont pas à un état de différenciation trop évolué, de l'action d'un produit diffusant dans l'ensemble du protoplasme et empêchant le mécanisme de la cinèse. La multiplication directe, dont un des effets est de régulariser les relations noyau-cytoplasme, intervient alors : c'est un phénomène physiologique de suppléance en ce qui concerne la prolifération.

3^o Les travaux sur la continuité génétique des chromosomes ne doivent pas autoriser à négliger ce fait, vérifié de façon expérimentale, grâce aux cultures d'épithélium vitellin : une cellule normale, différenciée, peut se reproduire d'une manière durable en gardant ses caractères spécifiques fondamentaux, qu'il y ait ou non, au cours de son évolution, apparition de chromosomes.

4^o L'analyse cytologique et expérimentale permet de préciser les propriétés caractérisant les cellules passées à l'état histiocytaire. Celles-ci, qu'elles proviennent, in vitro, des fibrocytes ou de l'épithélium vitellin, sont comparables aux catégories réversibles suivantes : 1^o macrophage proprement dit ; 2^o histiocyte actif ou mobilisé ; 3^o histiocyte quiescent ou cellule clasmato-

cytiforme. On peut interpréter le passage des cellules du type histiocyte quiescent à celles du même élément mobilisé, aussi bien qu'à celles du type macrophage proprement dit (seul comparable au choanolecocyte) comme analogue, physiologiquement, au passage réversible à l'état actif des Amibes ou des amibocytes d'*Invertébrés*. La forme adoptée dépend de la nature du milieu, mais aussi — peut-être principalement — de facteurs propres liés sans doute au métabolisme. Il ne semble pas que la différenciation des fibrocytes puisse être suffisante pour aboutir, dans tous les cas, à l'irréversibilité en histiocytes, du moins expérimentalement et dans des conditions favorables.

5° Les faits observés, lors de la transformation selon le type histiocyte, suggèrent que tout se passe comme si une réaction se déclenchait et s'accomplissait chez certaines cellules. Ce phénomène représente un changement d'état du protoplasme, portant le plus souvent sur une partie du matériel cellulaire pendant la méroamitose; il rappelle des formes imparfaites de thixotropie; il se traduit, dès le début, par la libération de groupements sulphydrilés fixes, provenant vraisemblablement d'une dénaturation physiologique des albumines protoplasmiques.

6° Une longue série d'essais expérimentaux (1935-1936) montre que des ammoniums quaternaires du groupe de la choline provoquent le passage des cellules vitellines à l'état histiocyttaire: le pourcentage des transformations — qui est spontanément de près de 3 p. 100 dans les cultures en flacon — monte à 53 p. 100 et 59 p. 100.

7° Une discussion finale est consacrée aux problèmes généraux posés par les faits analysés.

L'état symplastique et syncytial n'est pas rare; il est en rapport avec des modifications subies par le protoplasme; le retour à l'individualité cellulaire s'accompagne en général de la réapparition de la caryocinèse. La méroamitose est une cause d'erreur pour la théorie de la croissance rythmique des noyaux par doublement de volume.

S'il était démontré que des éléments épithéliaux sécréteurs encore doués d'une part de leurs potentialités embryonnaires — ou les acquérant de nouveau — pussent, sous certaines incitations, prendre le type histiocyte, *in vivo*, et continuer à proliférer en gardant leur spécificité de sécrétion, on serait amené à modifier encore nos conceptions du système histiocyttaire. Celui-ci comprendrait des cellules d'origine surtout conjonctive de souches variées, mais aussi d'autres, de provenances embryologiques diverses, pourvues d'un groupe défini de propriétés physiologiques et structurales acquises, gardant la possibilité d'élaborer et véhiculant leurs produits spécifiques utiles. Il se pourrait que les décharges ou la libération de choline dans le milieu intérieur contribuassent à provoquer le passage au type histiocyte de certaines cellules à un état favorable (par suite d'un produit vraisemblable de catabolisme). L'état actuel du système histiocyttaire dépendrait ainsi en partie d'un fonctionnement neurochimique.

On discute enfin sur les difficultés d'interprétation soulevées par quelques

résultats : les transformations irréversibles que subit un élément épithélial ; l'édification de structures réticulaires et collagènes par un épithélium pur (observées depuis par d'autres auteurs) ; la persistance de la spécificité par méroamitose.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

J'ai dû, pour des raisons économiques, grouper en une seule plusieurs références d'un même travailleur et supprimer, sauf exceptions, toutes celles relatives à la culture des tissus, lorsqu'elles sont indiquées dans les traités d'Albert FISCHER (1930) et de Guiseppe LEVI (1933). Je m'en excuse auprès des auteurs.

- ALFEJEV (S.). — Ueber die embryonale Histogenese der kollagenen und retikulären Fasern des Bindegewebes bei Säugetieren (*Z. Zellforsch.*, Bd. **3**, 1926, S. 149-168).
- ALIBERTI (Gina). — Fenomeni interessanti il sacco vitellino degli ucelli soppravitenti all'embrione (*Boll. Mus. Lab. Anat. comp., Genova*, t. **13**, 1933 p. 3-9).
- ARGAUD (R.). — Sur le bourgeonnement de l'épithélium de l'oviducte chez les Ovidés gravides (*C. R. Soc. biol.*, t. **84**, 1921, p. 256-257. Voir aussi : *Ibid.*, t. **85**, p. 284-285).
- ARNOLD (J.). — Beobachtungen über Kerne und Kernteilungen in den Zellen des Knochenmarks (*Virchows Arch.*, Bd. **93**, 1883, S. 1-38).
- ARTOM (Cesare). — La polyploidie dans ses corrélations morphologiques et biologiques [*C. R. Soc. biol.*, t. **99**, 1928 (Réunion plénière), p. 29-49].
- ASAÏ (T.). — Zur Entwicklung und Histophysiologie des Dottersackes der Nager, mit Entypie des Keimfeldes und zur Frage der sogen. Riesenzellen nach Untersuchungen bei der weissen variätet der Hausmaus (*Anat. Hefte*, Bd. **51**, 1914, S. 467-639).
- BAER (K. E. von). — Ueber Entwicklungsgeschichte der Tiere. 2. Th., Königsberg, 1837 (cité d'après BRANCA).
- BALFOUR (Francis M.). — A monograph on the development of Elasmobranch Fishes, 1878, London, et Traité d'embryologie et d'organogénie comparées (trad. française), t. **1**, 1883, 567 p., Baillière, édit. Paris.
- BARTA (Edmund). — Deficient oxydation as a cause of giant cell formation in tissue cultures of lymph nodes (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **2**, 1926, S. 6-30).
- BARTA (Edmund). — Transformation de l'épithélium et du tissu conjonctif. dans les cultures (*C. R. Soc. biol.*, t. **94**, 1926, p. 1125-1127; *Ibid.*, p. 1182-1184).
- BAUER (Hans). — Die Feulgensche Nuclealfärbung in ihrer Anwendung auf cytologische Untersuchungen (*Z. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1932, S. 225-247).
- BAUER (Karl). — Beitrag zur Frage der Makrophagengenesse im entzündeten Gewebe bei vitalgespeicherten Tieren (*Z. Zellforsch.*, Bd. **9**, 1929, S. 155-182. Voir aussi : *Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **35**, 1934, S. : 362-424).
- BEAMS (H.-W.). and KING (R. 4). — Effect of Ultra-Centrifugating on the cells of the Root-Tip of the Bean. (*Nature*, t. **135**, 1935, p. 232).

- BECHER (Hellmut). — Die Entwicklung des Mesoplacentariums und die Placenta bei Aguti (*Dasyprocta azaræ*, Schl.) (*Z. Anat. u. Entw.-gesch.*, Bd. **61**, 1921, S. 337-364).
- BENNINGHOF (Alfred). — Zur Kenntnis und Bedeutung der Amitose und amitosenähnlicher Vorgänge (*Sitzungsber. Ges. z. Bef. Naturwiss. Marburg.*, 1922, S. 45-68. Voir aussi : *Arch. mikrosk. Anat.*, Bd. **93**, 1923, S. 571-605).
- BERENT (W.). — Zur Kenntnis des Parablastes und der Keimblätterdifferenzierung im Ei der Knochenfische (*Jen. Z. Med. u. Naturwiss.*, Bd. **30**, 1896, S. 291-349).
- BERG (W.). — Ueber den mikroskopisch nachweisbaren Uebertritt von Stoffen, aus dem Cytoplasma in den Kern der Leberzelle (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **35**, 1934, S. 146-180. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **28**, 1932, S. 565-577).
- BERGMAN (R. A. M.). — The nucleo-plasmic ratio as a criterium for the cell type (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **12**, 1932, S. 321-338).
- BERILL (N. J.). — Cell division and differentiation in asexual and sexual development (*J. Morph.*, t. **57**, 1935, p. 353-427).
- BERKELBACH VAN DER SPRENKEL (H.). — Persistenz der Dottergefäße in den Embryonen der Fledermäuse und ihre Ursache (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **28**, 1932, S. 185-268).
- BHATTACHARYA (D. R.). — Les inclusions cytoplasmiques dans l'oogenèse de certains reptiles (*Thèse Fac. Sc.*, 1925, 103 p., Vigné, édit. Paris).
- BHATTACHARYA (D. R.), DAS (R. S.) and DUTTA (S. K.). — On the infiltration of Golgi bodies from the follicular epithelium to the egg (*Z. Zellforsch.*, Bd. **8**, 1929, S. 566-577).
- BINET (Léon), VERNE (Jean) et PARROT (Jean-Louis). — Histophysiologie des lipides pulmonaires. Influence du jeûne (*C. R. Soc. biol.*, t. **124**, 1937, p. 342-344 ; *Ibid.*, t. **125**, p. 121-123, 356-358, 712-714).
- BINET (L.) et CHAMPY (Chr.). — Sur les cultures de poumon *in vitro* (*C. R. Soc. biol.*, t. **94**, 1926, p. 1133-1134).
- BLOOM (W.). — Some relationships between the cells of the blood and of the connective tissues (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **11**, 1931, S. 145-156).
- BLOOM (W.). — Cellular differentiation and tissue culture (*Physiol. Rev.*, t. **17**, 1937, p. 589-617) (*Bibl.*).
- BOIS (Albert-H. du). — Physiologie du système réticulo-endothélial du point de vue de ses applications à la médecine (*Biol. méd.*, t. **28**, 1938, p. 1-30).
- BOUIN. — Éléments d'histologie, t. **1** et **2**, 1929, 580 p., Alcan, édit., Paris).
- BRACALONI (E.). — Nuove vedute sulla morfologia degli elementi macrofagi [*Hæmatologica (Pavia) Arch.*, t. **12**, 1931, p. 469-510].
- BRACHET (A.), DALCQ (A.) et GÉRARD (P.). — Traité d'embryologie des Vertébrés, 1935, 690 p., Masson et C^{ie}, édit., Paris.
- BRACHET (Jean). — Recherches sur le comportement de l'acide thymonucléinique au cours de l'oogenèse chez diverses espèces animales (*Arch. biol.*, t. **39**, 1929, p. 677-697. Voir aussi : *Ibid.*, t. **44**, 1933, p. 519-576).
- BRAMBELL (F. W. Rogers). — The oogenesis of the fowl (*Gallus Bankiva*) (*Phil. Trans. R. Soc. London*, t. **214**, 1925, p. 113-151).
- BRANCA (A.). — Recherches sur la structure, l'évolution et le rôle de la vésicule ombilicale de l'Homme (*J. Anat. et Physiol.*, t. **49**, 1913, p. 1-40, 171-211, 383-407).
- BRANCA (A.). — Recherches sur la vésicule ombilicale. II. La vésicule ombi-

- licale des Chéiroptères (*Arch. biol.*, t. **33**, 1923, p. 517-604. Voir aussi : *Ibid.*, p. 605-670) (*Bibl.*).
- BRATIANU (S.) et GUERRIERO (C.). — La cellule pulmonaire, sa fonction histiocytaire (*Arch. Anat., Histol. et Embryol.*, t. **11**, 1930, p. 423-488. Voir aussi : *Bull. Histol. appl.*, t. **7**, 1930, p. 201-219 et *C. R. Acad. Sc.*, t. **190**, 1930, p. 1529-1530).
- BRATIANU (S.) et LLOMBARD (A.). — Nouvelles recherches sur l'histophysiologie du système réticulo-endothélial (*Ann. Anat. path.*, t. **7**, 1930, p. 69-86. Voir aussi : *Arch. Anat. microsc.*, t. **26**, 1930, p. 335-372) (*Bibl.*).
- BRESLAU (Ernst) und SCREMIN (Luigi). — Die Kerne der Trypanosomen und ihr Verhalten zur Nuclealreaktion (*Arch. Protistenk.*, Bd. **48**, 1924, S. 509-515).
- BRUNI (Angelo Cesare). — Il mesenchima nella difesa dell'organismo [*Monit. zool. ital.*, t. **40**, 1929, p. 395-397. Voir aussi : *C. R. Assoc. Anat.*, 1926 (21^e réunion), p. 113-118].
- BRUNSCHWIG (A. E.). — Notes on experiments in placental permeability (*Anat. Rec.*, t. **34**, 1927, p. 237-244).
- BUCHANAN (J. W.). — Regional differences in rate of oxydations in the chick blastoderm as shown by susceptibility to hydrocyanic acid (*J. exper. Zool.*, t. **45**, 1926, p. 141-157).
- BUSINCO (A.) et GIONTI (G.). — Sull'apparato distrettuale respiratorio in funzione reticulo-endoteliale [*Hæmatologica (Pavia) Arch.*, t. **11**, 1930, p. 499-525].
- BYERLY (T. C.). — Growth of the chick embryo in relation to its food supply (*J. exper. Biol.*, t. **9**, 1932, p. 15-44. Voir aussi : *Anat. Rec.*, t. **32**, 1926, p. 249-270).
- CALZONI (Maria). — Contributo allo studio dell'utilizzazione delle riserve vitelline nell'embrione degli ucelli (*Riv. biol.*, t. **12**, 1930-1931, p. 14-17).
- CARLETON (H. M.). — Observations on an intra-nucleolar body in columnar epithelial cells of the intestine (*Quart. J. microsc. Sc.*, t. **64**, 1920, p. 329-343).
- CARLETON (H. M.). — Growth, phagocytosis, and other phenomena in tissue cultures of foetal and adult lung (*Phil. Trans. R. Soc. London*, t. **213**, 1925, p. 365-395. Voir aussi : *Proc. R. Soc. London*, t. **108**, 1933, p. 1-10).
- CARREL (A.) and EBELING (A. H.). — The fundamental properties of the fibroblast and the macrophage. I. The fibroblasts (*J. exper. Med.*, t. **44**, 1926, p. 261-284. Voir aussi : *Ibid.*, t. **43**, p. 461-468).
- CATE-HØDEMAKER (N. J. ten). — Beiträge zur Kenntnis der Plazentation bei Haien und Reptilien. Der Bau der reifen Plazenta von *Mustelus lævis* Risso. und *Seps chalcides* Merr. (*Chalcides tridactylus* Laur.) (*Z. Zellforsch.*, t. **18**, 1933, S. 299-345).
- CHADANI (Ryo). — Studies on the phagocytic function of connective tissue cells taken from living or dead animal and human bodies. I. The influence of temperature (*Trans. Jap. path. Soc.*, t. **17**, 1929, p. 90-96).
- CHALETZKAJA (Fanny). — Ueber die Wachstumsvorgänge im Hautepithel bei Kältewirkung (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 463-474).
- CHAMPY (Christian). — Sur les phénomènes cytologiques qui s'observent dans les tissus cultivés en dehors de l'organisme. I. Tissus épithéliaux et glandulaires (Note préliminaire) (*C. R. Soc. biol.*, t. **72**, 1912, p. 987-988. Voir aussi : *Arch. Zoo. expér. et gén.*, t. **60**, 1920, p. 461-500, et *C. R. Soc. biol.*, t. **94**, 1926, p. 1082-1084).

- CHAMPY (Chr.) et MORITA (J.). — Recherches sur les cultures de tissus. Observations sur les cultures de testicule et d'ovaire chez les Mammifères, les Oiseaux et les Batraciens (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. 5, 1928, S. 308-340).
- CHARBONNEL-SALLE et PHISALIX. — De l'évolution post-embryonnaire du sac vitellin chez les Oiseaux (*C. R. Acad. Sc.*, t. 102, 1886, p. 1496-1498).
- CHATTON (Ed.). — Essais sur la structure du noyau et la mitose chez les Amœbiens (*Arch. Zool. exper. et gén.*, t. 45, 1910, p. 267-337).
- CHILD (C. M.). — Studies on the relation between amitosis and mitosis. I-VI, (*Biol. Bull.*, t. 12, 1907, p. 89-114, 175-190, 191-224, et t. 13, 1907, p. 138-148, 165-184).
- CHLOPIN (Nikolaus). — Ueber die Verwandlungen des Epithels der Bauchspeicheldrüse in Gewebeskulturen (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. 9, 1930, S. 64-127. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. 15, 1934, S. 149-164, et *Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. 30, 1932, S. 45-115).
- CHLOPIN (N.). — Studien über Gewebeskulturen in artfremdem Plasma. V. Mitteilung. Das Verhalten und die Verwandlungen des menschlichen Mesenchyms im Explantat (*Arch. exper. Zellsforsch.*, Bd. 12, 1932, S. 11-85. Voir aussi : *Ibidem*, Bd. 11, 1931, S. 226-232).
- CHRUSTSCHOFF (G. K.). — Cytological Investigations on cultures of Normal Human Blood (*J. of Genetics*, t. 31, 1935, p. 243-261).
- CLARA (Max). — Ueber den Bau der Leber beim Kaninchen und die Regenerationserscheinungen an diesem Gewebe bei experimenteller Phosphorvergiftung (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. 26, 1931, S. 45-166).
- CLARA (Max). — Vergleichende Histologie des Nierenglomerulus und der Lungenalveole (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. 40, 1936, S. 147-280).
- CLARK (Eliot R.) and CLARK (Eleanor Linton). — Observations on the macrophages of living amphibian larvas (*Amer. J. Anat.*, t. 46, 1930, p. 91-147 et 149-185).
- COHN (L.). — Ueber die Resorption des Dottersackes bei *Anguis fragilis* L. (*Zool. Anz.*, Bd. 30, 1906, S. 429-440).
- COLLIN (R.). — Sur la régénération des cellules hypophysaires chez l'Homme [*C. R. Soc. biol.*, t. 90, 1924, p. 1053-1055. Voir aussi : p. 1419-1421, *C. R. Ass. Anat.*, 1924 (19^e réunion), p. 100-108, et *Biol. méd.*, t. 20, 1930, p. 352-366].
- COLLIN (R.) et FLORENTIN (P.). — Sur le gigantisme nucléaire à l'état normal (*C. R. Soc. biol.*, t. 119, 1935, p. 859-862).
- COLLIN (R.) et GRUJIC (M.). — Caryométrie comparée de deux portions de la glande de Löwenenthal (*C. R. Soc. biol.*, t. 109, 1932, p. 472-474).
- COLLIN (R.) et STUTINSKY (F.). — Amitoses, endocytoses, endocytogenèses dans la glande pituitaire de la Grenouille (*C. R. Soc. biol.*, t. 126, 1937, p. 334-336).
- COMMANDON (J.), FONTBRUNE (P. DE) et JOLLY (J.). — Étude expérimentale de la division cellulaire. Nouvel enregistrement cinématographique (*C. R. Soc. biol.*, t. 117, 1934, p. 975-977).
- CONKLIN (Edwin. G.). — Mitosis and amitosis (*Biol. Bull.*, t. 33, 1917, p. 396-436).
- COURRIER (R.). — Contribution à l'étude morphologique et fonctionnelle de l'épithélium du pavillon de l'oviducte chez les Mammifères (*C. R. Soc. biol.*, t. 84, 1921, p. 571-572. Voir aussi : *Ibid.*, t. 85, p. 941-943).
- COWDRY (E. V.). — La signification de l'appareil réticulaire interne de Golgi en physiologie cellulaire (*Bull. Histo. appl.*, t. 1, 1924, p. 224-240. Voir aussi : *Amer. Naturalist.*, t. 60, 1926, p. 157-165).

- CRACIUN (Émile-C.). — La culture des tissus en biologie expérimentale, 1931, 440 p., Masson et C^{ie}, édit. Paris (*Bibl.*).
- DALCQ (Albert) et PASTELLS (Jean). — Une conception nouvelle des bases physiologiques de la morphogenèse (*Arch. biol.*, t. **48**, 1937, p. 669-710).
- DEHORNE (Armand) et HOSSELET (C.). — Passage de masses nucléolaires dans le cytoplasme des glandes séricigènes des Phryganides (*C. R. Soc. biol.*, t. **99**, 1928, p. 573-574. Voir aussi : *Ibid.*, p. 575-577).
- DEVAUX (H.). — Le lien entre l'organisation et l'activité vitale ; rôle des membranes plasmiques (*C. R. Acad. Sc.*, t. **190**, 1930, p. 1241-1243. Voir aussi *Bull. Soc. fr. Phy.* t. **9**, 1928, p. 34-36 et *Bull. S. Bota. Fr.* t. **75**, 1928, p. 88-97).
- DOLJANSKI (L.) und ROULET (Fr.). — Studien über die Entstehung der Bindegewebsfibrillen [*Virchows Arch.*, Bd. **5**, 1933, S. 260-320 (*Bibl.*). Voir aussi : *Protoplasma* (Berlin), Bd. **23**, 1935, p. 443-447].
- DOMINICI (H.). — Études sur le tissu conjonctif et les organes hématopoïétiques des Mammifères. Tissu conjonctif général (*Arch. Anat. microsc.*, t. **17**, 1920, p. 1-76).
- DREYFUS (A.). — Sur un type particulier d'amitoses dans les cellules folliculeuses de l'ovaire du Grillon (*C. R. Soc. biol.*, t. **109**, 1932, p. 409-412).
- DUBOSCQ (O.) et GRASSÉ (P.). — L'appareil parabasal des Flagellés (*Arch. Zoo. exper. et gén.*, t. **73**, 1933, p. 381-621) (*Bibl.*).
- DUBREUIL (G.). — Le chondriome et le dispositif de l'activité sécrétoire aux différents stades du développement des éléments cellulaires de la lignée connective, descendants du lymphocyte, etc... (*Arch. Anat. microsc.*, t. **15**, 1913, p. 53-151).
- DUBUISSON (H.). — Contribution à l'étude du vitellus (*Arch. Zool. exper. et gén.*, t. **5**, 1906, p. 153-402. Voir aussi : *C. R. Soc. biol.*, t. **57**, 1904, p. 322-323. *Ibid.*, p. 437-438 et *Ibid.*, p. 286-288).
- DUCLAUX (J.). — Traité de chimie physique appliquée à la biologie, 1934, Hermann et C^{ie}, édit., Paris.
- DUTHIE (E. S.). — The mechanism of glandular secretion (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, p. 352-354. Voir aussi : *Proc. R. Soc. London*, t. **114**, 1934, S. 20-47).
- DUVAL (Mathias). — Études histologiques et morphologiques sur les annexes des embryons d'Oiseau (*J. Anat. et Physiol.*, t. **20**, 1884, p. 201-241).
- EPHRUSSI (Boris). — Sur la culture de l'endothélium du foie embryonnaire (*C. R. Soc. biol.*, t. **103**, 1930, p. 762-764. Voir aussi : *Ibid.*, t. **106**, 1931, p. 635-637, et *C. R. Acad. Sc.*, t. **192**, 1931, p. 1763-1765).
- EPHRUSSI (Boris) et HUGUES (Yvonne). — Sur la transformation des fibroblastes en macrophages (*C. R. Soc. biol.*, t. **105**, 1930, p. 697-699).
- EPHRUSSI (Boris) et LITVAC (A.). — Quelques résultats de la statistique des mitoses dans les cultures de l'épithélium rénal du Lapin (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **16**, 1934, p. 203-220).
- ETERNOD (A. C. F.). — Il y a un lécitophore dans l'embryon humain (*Bibl. Anat.*, t. **15**, 1906, p. 247-258).
- EVANS (H. M.) and SCOTT (K. J.). — On the differential reaction to vital dyes exhibited by two great groups of connective-tissue cells [*Contrib. to Embryol.* (Publ. 273. Carnegie Inst. Wash.), t. **110**, 1921, p. 1-55].
- FAURÉ-FRÉMIET (E.). — La cinétique du développement, 1925, 335 p., Les Presses Universitaires de France, Paris.

- FAURÉ-FRÉMIET (E.). — Les amibocytes des Invertébrés à l'état quiescent et à l'état actif (*Arch. Anat. microsc.*, t. **23**, 1927, p. 99-173 (*Bibl.*). Voir aussi : *Ibid.*, t. **26**, 1930, p. 475-487 ; *Protoplasma*, Bd. **6**, 1929, S. 521-609, et *Trans. Farad. Soc.*, t. **26**, 1930, p. 779-797 (*Bibl.*).
- FAURÉ-FRÉMIET (E.). — Forme et activité cellulaire d'après l'expérimentation *in vitro*. Les changements d'état thixotropiques (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, S. 79-84. *Ibid.*, S. 373-380).
- FAURÉ-FRÉMIET (E.) et GARRAULT (H.). — Croissance et différenciation *in vitro* du mésenchyme embryonnaire [*C. R. Assoc. Anat.*, 1932 (27^e réunion), p. 254-256].
- FERINGA (K. J.) et HAAN (J. DE). — On the influence of changes of medium on the mode of growth of perfused cultures of migrating cells (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, S. 109-112).
- FEULGEN (R.) und VOIT (K.). — Ueber einen weitverbreiteten festen Aldehyd. Seine Entstehung aus einer Vorstufe, sein mikro-chemischer und mikroskopisch-chemischer Nachweis und die Wege zu seiner präparativen Darstellung (*Pflugers Arch.*, Bd. **206**, 1924, S. 389-410).
- FEULGEN (R.) und ROSSENBECK (H.). — Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nukleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten (*Z. physiol. Chem.*, Bd. **135**, 1924, S. 203-248).
- FILHOL (J.). — Modifications des constituants cellulaires dans les vésicules multifides des Pulmonés au cours de l'hibernation et du repos sécrétoire (*C. R. Soc. biol.*, t. **118**, 1935, p. 1273-1276. Voir aussi : *Ibid.*, t. **116**, 1934, p. 394-397, 497-499, 579-581, 1231-1233, et t. **117**, p. 592-595, 1066-1069, et *Bull. Soc. R. Sc. Liège*, t. **4**, 1934, p. 87-91).
- FISCHER (Albert). — Sur la transformation *in vitro* des gros leucocytes mononucléaires en fibroblastes (*C. R. Soc. biol.*, t. **92**, 1925, p. 109-112).
- FISCHER (Albert). — Umwandlung von Fibroblasten zu Makrophagen *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **3**, 1927, S. 345-352).
- FISCHER (Albert). — Gewebezüchtung, 1930, 661 S., verlag Müller u. Steinicke, München. (*Bibl.*).
- FISCHER (Albert) und DOLSCHANSKY (Leonid). — Ueber das Wachstum von Milzstromazellen *in vitro* (*W. Roux' Arch.*, Bd. **116**, 1929, S. 123-135).
- FISCHER (Ilse). — Die Pigmentbildung des Irisepithels *in vitro*. Ein Beitrag zu den Beziehungen zwischen Differenzierung, Wachstum und Funktion (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **21**, 1938, S. 92-154. Voir aussi : *Z. Zellforsch.*, Bd. **23**, 1935, S. 219-243).
- FISCHER (Ilse) und RIES (Erich). — Das Verhalten der Pankreaszelle des Hühnchens in der Gewebekultur (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1936, S. 280-314).
- FISCHER-WASELS (B.). — Discussion de la conférence de Tannenberg [*Verh. Deutsch. path. Ges.*, 1929 (24^e Tagung), S. 36].
- FLORIAN (J.). — The formation of the connecting stalk and the extension of the amniotic cavity towards the tissue of the connecting stalk in young human embryos. (*J. Anat.*, t. **64**, 1930, p. 454).
- FOOT (Nathan Chandler). — Chemical contrasts between collagenous and reticular connective tissue (*Amer. J. Path.*, t. **4**, 1928, p. 525-544).
- FREERKSEN (Enno). — Ein neuer Beweis für das rhythmische Wachstum der Kerne durch vergleichende volumetrische Untersuchungen an den Zell-

- kernen vom Meerschweinchen und Kaninchen (*Z. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1933, S. 362-399).
- GATENBY (Bronte J.). — The prozymogen granules (vacuome) of BENSLEY (R. R.) in the *Pseudotriton* pancreas and the modern neutral red cytology [*Amer. J. Anat.*, t. **48**, 1934, p. 421-472. Voir aussi : GATENBY (B. J.), HILL (J. C.) et MACDOUGALD (T. J.), *Quart. J. microsc. Sc.*, t. **77**, 1934, p. 129-155].
- GÉRARD (Pol.). — Sur l'histophysiologie des annexes fœtales des Mammifères (*Biol. Rev.*, t. **5**, 1930, p. 114-125. Voir aussi : *Arch. biol.*, t. **35**, 1925, p. 269-293 et *Ibid.*, t. **38**, 1928, p. 203-217 et 327-354).
- GÉRARD (Pol.). — Sur la réaction plasmale (*Bull. Hist. appl.*, t. **12**, 1935, p. 274-278).
- GILLMAN (Joseph). — The nature and significance of the changes in the Golgi apparatus in cancer (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1937, S. 428-432. Voir aussi : *Anat. Rec.*, t. **60**, 1934, p. 209-230).
- GIROUD (A.) et BULLIARD (H.). — Mise en évidence de substances à fonction sulfhydryle (*Bull. Hist. appl.*, t. **11**, 1934, p. 169-170).
- GOLDMANN. — Die äussere und innere Sekretion des gesunden Organismus im Lichte der « vitalen Färbung », 1909, Tübingen. Voir aussi : Neue Untersuchungen über die äussere... Tübingen, 1912. (Cité d'après Gérard).
- GOLDNER (Jacques). — Capacités évolutives des cellules adipeuses. Expériences de l'épuisement du pouvoir histiocyto-formateur (*C. R. Soc. biol.*, t. **115**, 1934, p. 72-74. Voir aussi : *Ibid.*, t. **118**, 1935, p. 1590-1592 ; *Vol. jub. Prof. Parhon. Jassy* ; *Arch. Anat. Hist. et Embryol.*, t. **19**, 1935, p. 230-265 ; *Z. Zellforsch.*, Bd. **24**, 1936, S. 312-314).
- GRABOWSKA (Z.). — Bourgeonnement nucléaire dans l'épithélium de la glande verte chez l'Écrevisse (*Potamobius astacus* L.) (*C. R. Soc. biol.*, t. **103**, 1930, p. 847-850).
- GRÄPER (Ludwig.). — Beobachtungen von Wachstumsvorgängen an Reihenaufnahmen lebender Hühnerembryonen nebst Bemerkung über vitale Färbung (*Arch. Entw.-mech.*, Bd. **33**, 1911, S. 303-327).
- GRÄFF (Siegfried). — Pathologisch-anatomische Beiträge zur Pathogenese des Thyphus abdominalis. Ein Beitrag zur Lehre von den defensiven Reaktionen (*Deutsch. Arch. klin. Med.*, Bd. **125**, 1918, S. 352-414).
- GRASSÉ (P.) et LEPERON (L.). — Quelques données nouvelles sur la sécrétion de la soie chez le Bombyx du Mûrier (*Sericaria mori* L.) (*Arch. Zoo. expér. et gén.*, t. **76**, 1933-1934, Notes et Revue, p. 90-101).
- GRODZINSKI (Z.). — Area vitellina of chick blastoderm in tissue cultures [*Contrib. to Embryol.* (Publ. 414 Carnegie Inst. Wash.), t. **22**, p. 155-172].
- GRODZINSKI (Z.). — Ueber die Entwicklung von unterkühlten Hühneriern [*W. Roux Arch.*, Bd. **129**, 1933, S. 502-521 ; *Ibid.*, Bd. **131**, 1934, S. 653-671. Voir aussi *Bull. Acad. polon. Sc. et L.* (série B. Sc. Nat. 2), 1934 p. 415-427].
- GROSSFELD (H.). — Der Einfluss der physikalischen Beschaffenheit des Mediums auf das Wachstum der Zelle (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **16**, 1934, S. 317-360).
- GRYNFELT (E.). — Les constituants morphologiques de la cellule dans le cancer [*Biol. med.*, t. **25**, 1935, p. 1-102 (*Bibl.*). Voir aussi : *C. R. Assoc. Anat.*, 1937 (32^e réunion), p. 202-205].
- GUIEYSSE-PELLISSIER (A.). — Hypertrophies nucléaires. Noyaux géants, noyaux informes, amas de noyaux (*Arch. Anat. microsc.*, t. **22**, 1926, p. 329-373. Voir aussi : *Ibid.*, t. **23**, 1927, p. 347-395, et t. **25**, 1929,

- p. 236-250). L'état réactionnel. Évolution du tissu lymphatique en réaction, 1932, 224 p., Alcan, édit., Paris.
- GUILLIERMOND (A.). — Les constituants morphologiques du cytoplasme. Le système vacuolaire ou vacuome, 107 p. Le chondriome, 128 p., 1934, Hermann et C^{ie} édit., Paris (*Bibl.*).
- GUILLIERMOND (A.), MANGENOT (G.) et PLANTEFOL (L.). — Traité de cytologie végétale, 1933, 1195 p., Le François, édit., Paris (*Bibl.*).
- GUYON (L.). — Emploi du réactif de Schiff dans l'étude de la myéline normale et dégénérée (*C. R. Soc. biol.*, t. **109**, 1932, p. 1101-1105).
- HAAN (J. DE). — Das Auftreten der verschiedenen Zelltypen in Blut und Bindegewebe (Eigenschaften und Entstehungsbedingungen) nach Untersuchungen mittels der Durchströmungskultur *in vitro* [*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **7**, 1928, S. 298-326. Voir aussi : HAAHN (J. DE) KOLK (K.) und GERRITSMA (H.), *Ibid.*, S. 283-297. Voir aussi : *Pflügers Arch.*, Bd. **201**, 1923, S. 393-401].
- HAAN (J. DE) and FERRINGA (K. J.). — On the possibility to force the growth of perfused cultures in the direction of an adenoid (or hemopoetic) system (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, S. 106-108).
- HAECKER (V.). — Mitosen im Gefolge amitosenähnlicher Vorgänge (*Anat. Anz.*, Bd. **17**, 1900, S. 9-20).
- HAMAZAKI (Yukio) und WATANABE (Masao). — Ueber die Affinität der Histocyten zu den verschiedenen Organen und Geweben. I. Mitteilung. Experimentelle Untersuchungen mittels intravaskulärer Injektion von « Karminzellen » [*Trans. jap. path. Soc.*, Bd. **19**, 1929, S. 212-219. Voir aussi : *Fol. hæmat.* (Leipzig), Bd. **39**, 1929, S. 12-34].
- HANCE (R. T.). — The somatic chromosomes of the Chick and their possible sex-relations (*Science*, t. **59**, 1924, p. 424-425).
- HANCE (R. T.). — A comparison of mitosis in the chick tissue cultures and in sectioned embryos (*Biol. Bull.*, t. **50**, 1926, p. 155-159. Voir aussi : *Ibid.*, t. **51**, p. 443-449, et *J. Morph.*, t. **43**, 1926, p. 119-145).
- HARANT (H.). — Remarques sur les caryosomes et l'amitose en cyto-pathologie (*Bull. Cancer*, t. **19**, 1930, p. 216-228).
- HAUSBERGER (F. X.). — Ueber die genetischen und funktionellen Beziehungen zwischen Fettzellen und den Zellen des lockeren Bindegewebes (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **20**, 1937, S. 336-361).
- HEIDENHAIN (M.). — Ueber die Noniusfelder der Muskelfaser (*Anat. Hefte*, Bd. **56**, 1919, p. 323-402).
- HENNEGUY (L. Félix). — Recherches sur le développement des Poissons osseux. Embryogénie de la Truite (*J. Anat. et Physiol.*, t. **24**, 1888, p. 413-502).
- HERINGA (G. C.). — Retikulin und Kollagen (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **34**, 1933, S. 459-484. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **1**, 1924, S. 607-620).
- HERINGA (G. C.) und HOOFT (C.). — Ueber den Zusammenhang der Argyrophilie der Bindegewebsfasern mit dem Stoffwechsel der Zellen (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **36**, 1934, S. 1-9).
- HERINGA (G. C.) und LOHR (H. A.). — Origine et structure ultramicroscopique de la substance collagène [*C. R. Assoc. Anat.*, 1926 (21^e réunion), p. 257-261. Voir aussi : *Bull. Hist. appl.*, t. **3**, 1926, p. 125-141].
- HIBBARD (Hope). — Contribution à l'étude de l'ovogenèse de la fécondation et de l'histogenèse chez *Discoglossus pictus* Otth. (*Arch. Biol.*, t. **38**, 1928, p. 251-326).

- HILL (Joyce C.). — The cytologie and histochemistry of osteoblasts grown *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1936, S. 496-511).
- HIRSCH (G. Ch.). — Probleme der Restitution in Drüsen (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1937, S. 385-404) (*Réf. ant.*).
- HIS (Wilhelm). — Ueber den Keimhof oder Periblast der Selachier (*Arch. Anat. u. Physiol.*, 1897, S. 1-64).
- HOLLANDE (A. Ch.). — Les nucléosomes et l'organisation du noyau de la cellule [*Arch. Zoo. exper. et gén.*, t. **79**, 1937 (Protistologica 72), p. 317-380].
- HRABOWSKI (Hanni). — Das Dotterorgan der Eidechsen (*Z. Wiss. Zool.*, Bd. **128**, 1926, S. 305-382).
- HUECK (W.). — VII. Ueber das Mesenchym. Die Bedeutung seiner Entwicklung und seines Baues für die Pathologie (*Beitr. path. Anat. u. allg. Path.*, Bd. **66**, 1929, S. 330-376).
- HUXLEY (Julian). — Early embryonic differentiation (*Nature*, t. **113**, 1924, p. 276-278).
- HUZELLA (Th.). — Histologische Grundlagen einer Interzellularpathologie [*Wien. klin. Wochenschr.*, Bd. **46**, 1937, S. 1-14. Voir aussi : *Anat. Anz.*, Bd. **83**, 1937 (Ergenz. H.), S. 61-68, et *Arch. klin. Chir.*, Bd. **88** 1937, S. 411-425].
- JACOB (W.). — Ueber das rythmische Wachstum der Zellen durch Verdoppelung ihres Volumens (*Arch. Entw.-mech.*, Bd. **106**, 1925, S. 124-192).
- JASSWOIN (G.). — Beiträge zur vergleichenden Histologie des Blutes und des Bindegewebes. IX. Experimental-morphologische Studien über einige Zellformen des lockeren Bindegewebes der Säugetiere (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **19**, 1930, S. 513-536, et *Ibid.*, Bd. **15**, 1928, S. 107-156).
- JENTSCH (Siegfried). — Die Chromosomen des Wellensittichs (*Melopsittacus undulatus*), untersucht in somatischen Geweben und in der Spermatogenese, nebst einigen Bemerkungen über Kernfragmentation im Amnion (*Z. Zellforsch.*, Bd. **23**, 1935, S. 607-626).
- JOLLY (J.). — Traité technique d'hématologie, t. **1** et **2**, 1923, 1131 p., Maloine, édit., Paris.
- JORDAN (H. E.). — The histology of the yolk sac of a 9,2 mm. human embryo. (*Anat. Anz.*, Bd. **31**, 1907, S. 291-303. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **37**, 1910, S. 12-32 et 56-66).
- KAPEL (Otto). — Einige Untersuchungen über das Verhalten des Epithels *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **8**, 1929, S. 35-129. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **4**, 1927, S. 143-148).
- KAUFMANN (Carl) und LEHMANN (Erich). — Ueber den histochemischen Fettnachweis im Gewebe. Untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung des von Ciaccio angegebenen Färbeverfahrens (*Virchows Arch.*, Bd. **270**, 1928, S. 360-398).
- KEDROWSKI (Boris). — Ueber die Natur des Vakuoms (*Z. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1932, S. 731-760). — Eisenspeicherung in den embryonalen Fibrozyten aus einer Hühnchenherzkultur (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 318-324. Voir aussi : *Z. Zellforsch.*, Bd. **22**, 1935, S. 399-410, et *Ibid.*, S. 411-433).
- KINNEY (Roscoe L. Mac). — Studies on fibers in tissue culture. III. The development of Reticulum into Collagenous Fibers in Cultures of Adult Rabbit Lymph Nodes (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **9**, 1930, S. 14-35).
- KNAKE (Else). — Ueber die Bedeutung des Zeitpunktes der Explantation und

- damit zusammenhängender Umstände (Dotterresorption) für die Wachstumsart des Hühnerpankreas *in vitro* (Z. Zellforsch., Bd. 22, 1935, S. 754-770).
- KOKOTT (Werner). — Die Formbeeinflussung *in vitro* gezüchteter Fibrozyten erwachsener Kaninchen durch erhöhte Temperaturen (Z. Zellforsch., Bd. 12, 1931, S. 327-353).
- KÖLLIKER (Albert). — Embryologie ou traité complet du développement de l'Homme et des animaux supérieurs (trad. française), 1882, 1059 p. Reinwald, édit. Paris.
- KÖHRING (Vera). — The neutral-red reaction (J. Morph. and Physiol., Bd. 49, 1930, p. 45-137).
- KROGH (A.). — The use of isotopes as indicators in biological research (Science, t. 85, 1937, p. 187).
- LAGUESSE (E.). — La structure lamelleuse et le développement du tissu conjonctif lâche chez les Mammifères en général et chez l'Homme en particulier (Arch. biol., t. 31, 1921, p. 173-298).
- LANGYEL (Julia). — Bildung von Grenzmembranen in der Gewebekultur (Arch. exper. Zellforsch., Bd. 19, 1937, S. 330-334).
- LAVOLLAY (J.). — Le magnésium (Thèse Fac. Sc. Paris, 1936, et 1 vol., 255 p., Hermann, édit., 1936).
- LEVI (Guiseppe). — Conservazione e perdita dell'indipendenza della cellule dei tessuti. Elementi liberi, sincizi e plasmodi nelle colture *in vitro* [Arch. exper. Zellforsch., Bd. 1, 1925, S. 1-57. Voir aussi : C. R. Assoc. Anat., 1924 (19^e réunion), p. 204-217].
- LEVI (Guiseppe). — Explantation, besonders die Struktur und die biologischen Eigenschaften der *in vitro* gezüchteten Zellen und Gewebe (Erg. Anat. u. Entw.-gesch., Bd. 31, 1934, S. 125-707) (Bibl.).
- LEVI (Guiseppe). — Trattato di Istologia, 1935, 1007 p. Union Tipograf. Edit. Torino (Bibl.).
- LEVI (Guiseppe) et MAYER (H.). — Nouvelles recherches expérimentales sur le tissu nerveux cultivé *in vitro*. Recherches sur les ganglions spinaux [C. R. Assoc. Anat., 1937 (32^e réunion), p. 248-265].
- LEVI-MONTALCINI (R.), SACERDOTE (E.). — Formazione di fibrille reticolari e collagene in colture di epiteli e di elementi di miocardici. Nota preliminare [Monit. Zool. ital., t. 47, 1936, p. 309-318. Voir aussi : Bull. Hist. appl., t. 14, 1937, p. 121-134, et C. R. Assoc. Anat., 1937 (32^e réunion), p. 492-493].
- LEWIS (Warren H.). — Macrophages and other cells of the deep fascia of the thigh of the rat [Contrib. to Embryol. (Publ. 94 Carnegie Inst. Wash.), t. 20, 1929, p. 193-212. Voir aussi : Arch. exper. Zellforsch., Bd. 6, 1928, S. 253-259].
- LISON (L.). — Recherches histophysiologiques sur les amibocytes des Échinodermes (Arch. biol., t. 40, 1930, p. 175-203).
- LISON (L.). — Histochimie animale, 1936, 320 p., Gauthier-Villars, édit., Paris. Voir aussi : Bull. Hist. appl., t. 10, 1933, p. 237-277, 292-306 (Bibl.), et Bull. Chim. appl., t. 18, 1936, p. 185-189.
- LITVAC (A.). — Propriétés et structure des substances intercellulaires formées en culture *in vitro* (Arch. Anat. microsc., t. 33, 1937, p. 151-166).
- LITWER (Georg). — Ueber die Sekretion und Resorption in den Dotterentoderniszellen bei graviden weissen Mäusen (Z. Zellforsch., Bd. 8, 1929, S. 135-152).

- LÖWIT (M.). — Ueber amitotische Kernteilung (*Biol. Centralbl.*, Bd. **11**, 1891, S. 513-516).
- LUCIEN (M.). — Différents types de dégénérescence métamorphotique dans les tumeurs épithéliales (*C. R. Soc. biol.*, t. **104**, 1930, p. 1284-1286. Voir aussi : t. **112**, 1933, p. 1081-1082).
- LUDFORD (R. J.). — Nuclear activity in tissue culture (*Proc. R. Soc. London*, t. **98**, 1925, p. 457-467).
- MACDOUGALD (T. J.). — Further studies on the abnormalities in the cytology of the growth zone in tissue cultures (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1935, S. 85-101. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **19**, 1937, S. 433-437).
- MACDOUGALD (T. J.) and GATENBY (Bronte J.). — « Growth zone » cytology in tissue culture (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 325-334).
- MAILLORY (F. B.) and PARKER (F.). — Reticulum (*Amer. J. Path.*, t. **3**, 1927, p. 515-526).
- MARSTON (Hedley R.). — On the acceleration of enzymatic synthesis of proteins by lipoidal emulsions (*Austral. J. exper. Biol. and med. Sc.*, t. **3**, 1926, p. 233-236).
- MARZA (V. D.). — The formation of the hen's egg (Part V) (*Quart. J. microsc. Sc.*, t. **78**, 1935-1936, p. 191-249).
- MARZA (V. D.) and MARZA (E. V.). — The formation of the hen's egg (Parts I-IV) (*Quart. J. microsc. Sc.*, t. **78**, 1935-1936, p. 133-189. Voir aussi : *Bull. Hist. appl.*, t. **9**, 1932, p. 213-225, 313-341, et t. **11**, 1934, p. 65-74).
- MASSON et PEYRON. — A propos des tumeurs mixtes des glandes salivaires. Spécificité cellulaire et tumeurs mixtes (*Bull. Assoc. franç. Cancer*, t. **7**, 1914, p. 219-263).
- MAXIMOW (A.). — Ueber Amitose in den embryonalen Geweben bei Säugtieren (*Anat. Anz.*, Bd. **33**, 1908, S. 89-98).
- MAXIMOW (A.). — Bindegewebe und blutbildende Gewebe [*Handbuch der mikrosk. Anat.* (v. MÖLLENDORFF), Bd. **2**, 1927, 232-583 Verlag, Julius Springer, Berlin].
- MAXIMOW (A.). — Ueber das Mesothel (Deckzellen der serösen Häute) und die Zellen der serösen Exsudate. Untersuchungen an entzündetem Gewebe und an Gewebskulturen (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **4**, 1927, S. 1-42).
- MAXIMOW (A.). — Ueber die Entwicklung argyrophyler und kollagener Fasern in Kulturen von erwachsenem Säugetiergewebe (Nach des Verfassers Tode geschrieben und veröffentlicht von W. BLOOM) (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **17**, 1929, S. 625-659. Voir aussi : *Zentralbl. Path.*, Bd. **43**, 1928 S 145-152, et *Proc. Soc. exper. biol. and Med.*, t. **25**, 1928, p. 439-442).
- MAYER (A.) et SCHÄFFER (G.). — Une hypothèse de travail sur le rôle physiologique des mitochondries (*C. R. Soc. biol.*, t. **74**, 1913, p. 1384-1386).
- MAYER (Edmund). — Experiments on the limit of growth in tissue cultures (*Skand. Arch. f. Physiol.*, t. **72**, 1935, p. 249-258. Voir aussi : *C. R. Soc. biol.*, t. **119**, 1935, p. 422-424).
- MELISSINOS (K.). — Die entwicklung des Eies der Mäuse etc. (*Arch. mikrosk. Anat.*, Bd. **70**, 1907, S. 577-628).
- MEVES (F.). — Ueber amitotische Kernteilungen in den Spermatogonien des Salamanders und das Verhalten der Attractionsphären bei denselben (*Anat. Anz.*, Bd. **61**, 1891, S. 626-639).
- MIDY (Robert M.). — Le conjonctif histiocyttaire (système réticulo-endothélial), 1936, 557 p., Masson et C^{ie}, édit., Paris (*Bibl.*).

- MILLER (R.-A.). — Spermatogenesis in a sex-reversed female and in normal males of the domestic fowl, *Gallus domesticus* [*Anat. rec.*, t. **70**, 1938 (suppl. 2), p. 155-189].
- MILLOT (Jacques). — Contribution à l'histophysiologie des Aranéides (*Bull. Biol. France et Belgique*, 1926, suppl. 8, p. 1-238).
- MJASSOJEDOW (S. W.). — Genetische Wechselbeziehungen zwischen den Zellformen des lockeren Bindegewebes und des Blutes bei Wirbeltieren (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **7**, 1928-1929, S. 135-195).
- MØEN (Johannes K.). — The development of pure cultures of fibroblasts from single mononuclear cells (*J. exper. Med.*, t. **61**, 1935, p. 247-260).
- MÖLLENDORFF (Millie von). — Bindegewebsstudien. VIII. Ueber die Potenzen des Fibrozyten des erwachsenen Bindegewebes *in vitro* (*Z. Zellforsch.*, Bd. **9**, 1929, S. 183-228. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **12**, 1931, S. 559-578 ; Bd. **15**, 1932, S. 161-181 et Bd. **12**, S. 274-283).
- MÖLLENDORFF (Wilhelm von). — Zur Morphologie der vitalen Granulafärbung (*Arch. mikrosk. Anat.*, Bd. **90**, 1918, S. 463-502 et 503-542. Voir aussi : *Z. Zellforsch.*, Bd. **23**, 1935, S. 746-760).
- MÖLLENDORFF (Wilhelm von). — Die Entstehung von Histiocyten in Kulturen erwachsenen Bindegewebes (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **11**, 1931, S. 157-161. Voir aussi : *Z. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1932, S. 131-160).
- MÖLLENDORFF (Wilhelm von und Millie von). — Das Fibrozytennetz im lockeren Bindegewebe ; seine Wandlungsfähigkeit und Anteilnahme am Stoffwechsel (*Z. Zellforsch.*, Bd. **3**, 1926, S. 503-601).
- MOMIGLIANO-LEVI (Giulio). — Ricerche sulla istogenesi delle fibre collagene e ritcolari nelle culture *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **11**, 1931, S. 189-201. Voir aussi : *Boll. Soc. Biol. sper.*, t. **5**, 1930 ; *Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **13**, 1932, S. 176-194, et *Z. Zellforsch.*, Bd. **16**, 1932, S. 389-412).
- NAGEL (A.). — Ueber örtliche Reaktionen im Bindegewebe nach Lebendbeobachtungen unter Anwendung des Mikromanipulators (*Z. Zellforsch.*, Bd. **20**, 1934, S. 677-708).
- NAGEOTTE (J.). — L'organisation de la matière dans ses rapports avec la vie, 1922, 560 p., Alcan, édit., Paris. (Voir aussi : *C. R. Soc. biol.*, t. **79**, 1916, p. 833-839, 1031-1038, et t. **112**, 1933, p. 1279-1282).
- NAGEOTTE (J.). — Essais de reproduction *in vitro* de la trame collagène et hypothèses relatives à la construction de cette trame *in vivo* (*Ann. Anat. path. et Anat. norm.*, t. **8**, 1931, p. 1-12).
- NAGEOTTE (J.). — Considérations sur l'emploi des acides dans l'étude de la trame conjonctive [*C. R. Assoc. Anat.*, 1935 (30^e réunion), p. 394-399].
- NAGEOTTE (J.) et GUYON (L.). Reticulin (*Amer. J. Path.*, t. **6**, 1930, p. 631-653).
- NAGEOTTE (J.). — Considérations générales sur la trame conjonctive [*Arch. Biol.*, t. **41**, 1931, p. 1-35. Voir aussi : *C. R. Assoc. Anat.*, 1934 (29^e réunion), p. 408-433] (*Bibl.*).
- NAKAHARA (W.). — Studies of amitosis : its physiological relations in the adipose cells of insects and its probable significance (*J. Morph. and Physiol.*, t. **30**, 1918, p. 483-526).
- NAVILLE (A.). — Histogenèse et régénération du muscle chez les Anoures (*Arch. Biol.*, t. **32**, 1922, p. 37-171).
- NEEDHAM (Joseph). — Chemical Embryology (vol. I-III), 1931, 2021 p., Cambridge Presse edit.
- NORBERG (J.). — Beiträge zur Kenntnis des Dottersacks bei menschlichen

- Embryonen der 3. und 5. Woche (*Anat. Hefte*, Bd. **45**, 1912, S. 611-627).
- NORDMEYER (Nora). — Ueber Beziehungen von Exsudatzellen zu Fibrozyten verschiedener Tierarten (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **13**, 1932, S. 378-389).
- ODIETTE (D.). — Étude de la substance élastique dans les cultures de tissus *in vitro* (*Th. Fac. Méd. Paris*, 1933, 99 p.). Voir aussi : *C. R. Assoc. Anat.*, 1933 (28^e réunion), p. 501-512).
- OKKELS (Harald). — Dynamic cytology of the thyroid gland (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, S. 343-347).
- OLIVO (O. M.). — Differenziatione *in vitro* de fibre collagene (*Boll. Soc. ital. Biol. sper.*, t. **5**, 1930, p. 109. Voir aussi : *Ibid.*, t. **8**, 1933, p. 587-591).
- OLIVO (O. M.). — Das qualitative und quantitative Wachstum der Gewebe *in vitro* und dessen Faktoren (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **11**, 1931, S. 272-294).
- OLIVO (O. M.). — La mitose des cellules humaines cultivées *in vitro* [*C. R. Assoc. Anat.*, 1934 (29^e réunion), p. 441-450].
- PAILLOT (A.) et NOËL (R.). — Recherches histophysiologiques sur le tissu adipeux des larves d'Insectes (*Bombyx Mori* et *Pieris Brassicæ*) (*Bull. Hist. appl.*, t. **5**, 1928, p. 1-20).
- PALMER (Bean M.) and HIGGINS (Georg M.). — A study of the clasmotocytes in the musc. sacrospinalis of the rabbit (*Ann. med. Sc.*, t. **185**, 1933, p. 191-196).
- PARAT (Maurice). — Transformation, chez le Cobaye, de l'épithélium de l'organe de l'émail en tissu cartilagineux (*C. R. Soc. Biol.*, t. **93**, 1925, p. 1286-1288. Voir aussi : *Ibid.*, p. 1220-1222).
- PARAT (Maurice). — Contribution à l'étude morphologique et physiologique du cytoplasme (*Arch. Anat. microsc.*, t. **24**, 1928, p. 73-356).
- PARAVICINI (Aribert). — Faserstrukturen und Hartsubstanzen in Bindegewebskulturen verschiedenen Ursprungs (*Z. Zellforsch.*, Bd. **21**, 1934, S. 733-748).
- PARKER (Raymond C.). — The races that constitute the group of common fibroblasts. I. The effect of blood plasma (*J. exper. med.*, t. **55**, 1932, p. 713-734. Voir aussi : *Science*, t. **1**, 1931, p. 401-402).
- PARKER (Raymond C.). — The cultivation of tissues for prolonged periods in single flasks (*J. exper. Med.*, t. **64**, 1936, p. 121-130).
- PÉREZ (Charles). — Recherches histologiques sur la métamorphose des Muscides (*Calliphora erythrocephala* Mg.) (*Arch. Zool. exper. et gén.*, t. **4**, 1910, p. 1-274).
- PERROT (J.-L.). — La spermatogenèse et l'ovogenèse de *Lepisma (Thermobia) domestica*. Hétéropycnose dans un sexe homogamétique (*Z. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1933, S. 571-592).
- PETER (K.). — Betrachtungen über die Furchung und die Dotterverarbeitung bei den Wirbeltieren (*Z. Anat. u. Entw.-gesch.*, Bd. **63**, 1922, S. 494-538).
- PETER (K.). — Zellteilung und Zelltätigkeit Beobachtung und Experiment. IV. Mitteilung : Zellteilung und Sekretion (*Z. ges. Anat.*, Bd. **75**, 1925, S. 488-505 et 506-524. Voir aussi : *Z. Zellforsch.*, Bd. **9**, 1929, S. 561-602).
- PETERFI (T.). — Ueber die Thixotropie (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, S. 381. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **19**, 1937, S. 159-162).
- PETERFI (T.). — Histologie und Histogenese (*Fortschritte d. Zoo. N. F.*, Bd. **1**, 1937, S. 19-79). (*Bibl.*)
- PFEIFFER (H.). — Versuche über die Deformation kleiner Lymphozyten und

- Retikulumzellen aus der *in vitro* kultivierten Milz von *Petromyzon fluviatilis* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 456-462).
- PFUHL (W.). — Die Zellen des normalen lockeren Bindegewebes, unter besonderer Berücksichtigung der Clasmatocten (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **31**, 1932, S. 18-107).
- PHISALIX (C.). — Étude d'un embryon humain de 10 millimètres (*Arch. Zool. expér. et gén.*, t. **6**, 1888, p. 279-350).
- PINKUS (Hermann). — Untersuchungen über das Verhalten des Hühnerpankreas in der Gewebezüchtung (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **10**, 1931, S. 1-42).
- PLENK (H.). — Ueber argyrophile Fasern (Gitterfasern) und ihre Bildungszellen (*Erg. Anat. Entw.-gesch.*, Bd. **27**, 1925, S. 302-412) (*Bibl.*).
- POLICARD (A.). — Sur les phénomènes nucléaires au cours du développement *in vitro* des tissus conjonctifs et épithéliaux [*C. R. Soc. biol.*, t. **93**, 1925, p. 535-536. Voir aussi : *Bull. Hist. appl.*, t. **2**, 1925, p. 101-103, et *C. R. Assoc. Anat.*, 1926 (21^e réunion), p. 487-494].
- POLITZER (Georg.). — Versuche über den Einfluss des Neutralrots auf die Zellteilung (Mitose-Amitose-Pseudoamitose) (*Z. Zellforsch.*, Bd. **1**, 1924, S. 644-670).
- POLITZER (Georg.). — Pathologie der Mitose (*Protoplasma Monographien*), Bd. **7**, 1934, 228, S. verlag Geb. Bornträger, Berlin.
- POPOFF (W. W.). — Ueber die Zahl der Chromosomen und über die Heterochromosomen des Haushuhnes (*Z. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1933, S. 341-346).
- PORTMANN (Ad.) and BIDDER (Anna M.). — Yolk absorption in *Loligo* and the function of the embryonic liver and pancreas (*Quart. J. microsc. Sc.*, t. **72**, 1928 p. 301-325).
- RABAUD (E.). — Blastodermes de poule sans embryon (Anidiens). (*Bibliogr. Anat.*, t. **7**, 1899 p. 231-241.)
- RAPKINE (Louis). — Sur les processus chimiques au cours de la division cellulaire (*Ann. Physiol. et Physioco-chim. biol.*, t. **7**, 1931, p. 382-418).
- REDSLOB (E.). — Formations de tissu conjonctif à l'intérieur du cristallin avec ou sans lésion de sa capsule (*Ann. Anat. path.*, t. **3**, 1926, p. 823-831).
- REGAUD (Cl.). — Études sur la structure des tubes séminifères et sur la spermatogenèse chez les Mammifères (*Arch. Anat. microsc.*, t. **4**, 1901, p. 101-155 et 231-380).
- REGAUD (Cl.). — Attribution aux « formations mitochondriales » de la fonction générale « d'extraction et de fixation électives » exercée par les cellules vivantes sur les substances dissoutes dans le milieu ambiant (*C. R. Soc. Biol.*, t. **66**, 1909, p. 919-921).
- REMOTTI (E.). — Ricerche fisio-morfologica sul sacco vitellino del pollo (*Ric. morf.*, t. **7**, 1927, p. 199-232. Voir aussi : *Atti Acad. Naz. Lincei*, t. **5**, 1927, p. 910-913).
- REMOTTI (E.). — Sul' assunzione delle riserve grasse durante lo sviluppo embrionale del pollo (*Ric. morf.*, t. **10**, 1930, p. 1-23. Voir aussi : *Ibid.*, t. **11**, 1931, p. 1-16).
- REMOTTI (E.). — Il sacco vitellino degli ucelli e i fattori della sua involuzione (*Mon. Zool. ital.*, t. **42**, 1932, Suppl., p. 219-221. Voir aussi : *Ric. morf.* 1933, p. 1-20, et *Boll. Mus. e Lab. Zool. e Anat. comp. Genova*, t. **13**, 1933, p. 1-23).
- RENAUT (J.) et DUBREUIL (G.). — Sur les cellules rhagiocrines libres du liquide

- des diverses séreuses (*C. R. Soc. biol.*, t. **60**, 1906, p. 34-37), et RENAUT (J.) (*Arch. anat. microsc.*, t. **9**, 1907, p. 495-606).
- RETOVSKY (M. R.). — Modèle de respiration avec le système huile de tour-
nesol caroténoïdes (*Bull. Soc. Chim. biol.*, t. **17**, 1935, p. 1614-1629).
- RICHARDSON (K. C.). — The Golgi apparatus and other cytoplasmic structures
in normal and degenerate cells *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **16**, 1934,
S. 100-115).
- RIES (Erich). — Zur Histophysiologie des Mäusepankreas nach Lebendbeo-
achtung, Vitalfärbung und Stufenuntersuchung (*Z. Zellforsch.*, Bd. **22**,
1935, S. 523-585. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **23**, S. 63-83).
- RIES (Erich). — Untersuchungen über Differenzierung, Arbeitsrythmus und
Züchtbarkeit der Pankreaszelle (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1937,
S. 366-379).
- ROBB-SMITH (A. H. T.). — Gewebekultur aus der ausgewachsenen Kanin-
chenlunge (*Beitr. path. Anat.*, Bd. **97**, 1936, S. 481-508).
- ROBERTSON (B. T.). — The function of the lipoid and mitochondria (*Austra
J. exper. biol. med. Sc.*, t. **3**, 1926, p. 97-103).
- ROBINOW (Carl). — Ueber die Veränderlichkeit von Zellgrenzen in lebenden Epi-
thelverbänden (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1937, S. 294-296).
- ROSSI (Fernando). — Ueber Phagocytose von Fibrocyten von Normal-und
von Immuntieren in der Gewebekultur (*Z. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1933, S. 760-
765).
- ROUSSY (G.) et MOSINGER (M.). — Sur la plurinucléose neuronale dans les
noyaux végétatifs de l'hypothalamus des Mammifères (*C. R. Soc. biol.*,
t. **118**, 1935, p. 736-738. Voir aussi : *Ibid.*, t. **119**, p. 797-799, et t. **122**,
1936, p. 1290-1292).
- RUBASCHKIN (W.) und BESUGLAJA (W.). — Symplasten, Syncytien, Zellen
im Bindegewebe (*Z. Zellforsch.*, Bd. **14**, 1932, S. 440-464).
- RUFINI. — Fisiogenia. Ed. Vallardi, 1925 (cité d'après REMOTTI, 1927).
- RUMJANTZEW (A. W.) und. SUNTZOWA (W. W.). — Untersuchungen über
Entstehung und Differenzierung fibrillärer Strukturen in mesenchymalen
Gewebe *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 360-411).
- RUNNSTRÖM (J.). — Zur Kenntnis der Stoffwechselvorgänge bei der Entwic-
klungserregung des Seeigels. (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. **258**, 1933. Voir aussi -
Protoplasma, Bd. **15**, 1932, S. 532-565).
- SAGUCHI (S.). — Ueber das Verhalten des Nucleolus bei der Mitose in Kultur.
gewebe nebst Bemerkungen über die Chromosomenzahl beim Huhn (*Cytolo-
gische Studien Kanazawa. Selbstverl.*, Bd. **3**, 1930 S. 475. Voir aussi : *Ibid.*
Bd. **6**, 1933, S. 24-97).
- SAXER (Fr.). — Ueber die Entwicklung und den Bau der normalen Lym-
phdrüsen und die Entstehung der roten und weissen Blutkörperchen,
(*Anat. Hefte*, Bd. **6**, 1896, S. 346-532).
- SCHAPER (A.). — Ueber die Fähigkeit des fertigen Dottersackepithels geformte
Dotterelemente in sich aufzunehmen (*Anat. Anz.*, Bd. **22**, 1902, S. 129-
142).
- SCHOPPER (W.). — Ueber das Verhalten der Serosadeckzellen in der Kultur
(*Zentralbl. allg. Path. u. path. Anat.*, Bd. **50**, 1931, S. 389).
- SCHOPPER (W.) — Embrionales und erwachsenes Lungengewebe vom
Meerschweinchen und Huhn in der Kultur mit Zeiträfferbeobachtungen an
Flimmerepithel, sogenannten Alveolarphagozyten und von Kontraktionen

- der Bronchialmuskulatur (*Virchows Arch.*, Bd. **295**, 1935, S. 623-664. Voir aussi : *Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1937, S. 326-328).
- SCHULEMANN (W.). — Die vitale Färbung mit sauren Farbstoffen in ihrer Bedeutung für Anatomie, Physiologie, Pathologie und Pharmakologie (*Biochem. Z.*, Bd. **80**, 1917, S. 1-142).
- SCHULTZ (A.). — Ueber Umformung der Fibrocyten (Histiocytenbildung) im menschlichen Bindegewebe (*Verh. deutsch. path. Ges.*, 1928, S. 459-473).
- SEEMANN (G.). — Ueber die Beziehungen zwischen den einkernigen Blut- und Bindegewebelementen und über ihre Rolle bei Entzündung (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **11**, 1931, S. 162-164).
- SEKI (Masaji). — Contribution à l'étude des colorations intra et supravitales. X. Signification de la colorabilité des histiocytes et des réticulo-endothéliums (*Bull. Hist. appl.*, t. **14**, 1937, p. 114-117. Voir aussi : *Z. Zellforsch.* Bd. **24**, 1936, S. 186-203; Bd. **23**, 1935, S. 314-334, et Bd. **22**, S. 445-456, et 707).
- SIANG-HSU (W.). — The Golgi material in the oil glands of chicken, sparrow and pigeon : its behaviour and its topographical relationship to the secretory granules (*Z. Zellforsch.*, Bd. **22**, 1935, S. 132-139).
- SIMMS (Henry S.). — The effects of physiological agents on adult tissues in vitro (*Science*, t. **83**, 1936, p. 418-419).
- SNESAREW (P.). — Ueber die interstiziellen Stützfasern in der Anfangsperiode der Entwicklung des Hühnerembryo. Die Strukturbesonderheiten, ihre Genese, lokale Architektonik und organogenetische Bedeutung (*Erg. d. Anat. u. Entw.-gesch.*, Bd. **29**, 1932, S. 618-737).
- SOBOTTA. — Ueber die Entwicklung des Dottersacks der Nager mit Keimblatteinversion (mittlere und späte Stadien) und dessen Bedeutung für die Ernährung des Embryo (Nach Untersuchungen von Dr. Asai). (*Verh. Anat. Ges. Greifswald*, 1913, S. 155-160).
- SPADAFINA (Luigi). — Intorno al problema della trasformazione dei fibroblasti in macrofagi. Ricerche sperimentali (*Z. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1933, S. 192-216).
- SPADAFINA (Luigi). — Contributo allo studio delle culture *in vitro* di midollo osseo (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 43-67).
- SPADOLINI (Igino). — Quelques nouveaux aspects fonctionnels du système réticulo-endothélial. (La genèse des plaquettes et des facteurs de la coagulation du sang est une fonction holocrine des histiocytes endothéliaux des organes hémolymphatiques (*Sang*, t. **7**, 1933, p. 653-663. Voir aussi : *Arch. Ital. Anat. e Embriol.*, t. **32**, 1934, p. 295-310).
- SPEE (VON). — Zur Demonstration über die Entwicklung der Drüsen des menschlichen Dottersacks (*Anat. Anz.*, Bd. **12**, 1896, S. 76-79. Voir aussi : *Münch. med. Wochenschr.*, Bd. **43**, 1896, S. 784).
- СТЕПОФЕ (J.). — Étude sur le plasmosome et les chromosomes sexuels dans la spermatogenèse de *Nepa cinerea* et *Naucoris cinaicoides* (*Arch. Zoo. exper. et gén.*, t. **72**, 1932, p. 577-592).
- STRANGEWAYS (T. S. P.). — Observations on the changes seen in living cells during growth and division (*Proc. R. Soc. London*, t. **94**, 1922, p. 137).
- STROUGH (Howard Brown). — Modified mitosis in the chick embryo (*J. Morph and Physiol.*, t. **52**, 1931, p. 535-563, et *Ibid.*, t. **58**, 1935, p. 221-256).
- STUDNICKA (F. K.). — The symplasmic state of the tissues of the animal body (*Biol. Rev.*, t. **9**, 1934, p. 263-298) (*Bibl.*).

- STUMP (C. W.). — A human blastocyst *in situ* (*Trans. R. Soc. Edinburgh*, t. **56**, 1929, p. 191-202).
- STUTINSKY (F.). — Sur des zones de régénération dans l'hypophyse de la Grenouille adulte (*C. R. Soc. biol.*, t. **127**, 1938, p. 184-185).
- SUNTZOWA (Wera). — Die Beziehung zwischen den Fibrinfasern und den argyrophilen Fasern *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1935, S. 412-428).
- SZEPSENWOL (J.). — Le rôle morphogénétique du chondriome (*Bull. Hist appl.*, t. **11**, 1934, p. 302-322).
- TAKETOMI (S.). — Ueber das gegenseitige Verhalten der Milchflecke und der Fettzellen im Omentum majus bei äusseren Reizen (*Nagasaki Igakkwai Zasshi*, Bd. **12**, 1934, S. 1625-1632).
- TANNENBERG (Josef). — Ueber die Umwandlung von Fibroblasten in Makrophagen in der Kultur [*Verh. deutsch. path. Ges.*, 1929 (24. Tagung), S. 29-35. Voir aussi : *Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **9**, 1930, S. 247-257, 258-268, 402-418, et Bd. **11**, 1931, S. 165-166. Voir aussi : TANNENBERG (Josef) et HEEREN (J.), *Klin. Wochenschr.*, 1931, S. 2208-2211].
- THIERNESSE (A.). — Contribution à l'étude de la structure du tissu conjonctif lâche sous-cutané (*Arch. biol.*, t. **46**, 1935, p. 147-169).
- THOMAS (J. André). — Étude d'un processus néoplasique chez *Nereis diversicolor* O. F. M. dû à la dégénérescence des oocytes et quelquefois des soies (*Arch. Anat. microsc.*, t. **26**, 1930, p. 251-333).
- THOMAS (J. André). — La culture de la paroi de la vésicule ombilicale de l'embryon du Poulet. Étude morphologique des premiers stades [*C. R. Assoc. Anat.*, 1933 (28^e réunion), p. 655-669. Voir aussi : *C. R. Acad. Sc.*, t. **199**, 1933, p. 812-814, et *C. R. Soc. biol.*, t. **112**, 1933, p. 1206-1207].
- THOMAS (J. André). — La culture de la paroi de la vésicule ombilicale chez l'embryon du Poulet. La culture pure du syncytium entodermo-vitellin (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1934, S. 131-148. Voir aussi : *C. A. Acad. Sc.*, t. **197**, 1933, p. 425-427).
- THOMAS (J. André). — Aspect physiologique de la transformation spontanée *in vitro* des fibrocytes en macrophages (*C. R. Acad. Sc.*, t. **199**, 1934, p. 886-888).
- THOMAS (J. André). — La transformation *in vitro* de la cellule entoblasto-vitelline en macrophages (*C. R. Soc. biol.*, t. **117**, 1934, p. 758-760).
- THOMAS (J. André). — L'entoblaste vitellin se comporte *in vitro* comme une glande mérocrine sécrétant un produit comparable au vitellus (*C. R. Acad. Sc.*, t. **200**, 1935, p. 1140-1141. Voir aussi : *C. R. Soc. biol.*, t. **118**, 1935, p. 1312-1314, et *Ibid.* p. 1315-1316).
- THOMAS (J. André). — L'édification de fibres collagènes par l'entoblaste vitellogène chez le Poulet. Ses rapports avec la structure histiotypique *in vitro* (*C. R. Soc. biol.*, t. **118**, 1935, p. 1430-1432).
- THOMAS (J. André). — Persistance de la fonction sécrétrice de la cellule entoblasto-vitellogène au cours de ses transformations *in vitro*. Le macrophage vitellogène (*C. R. Acad. Sc.*, t. **200**, 1935, p. 1360-1362).
- THOMAS (J. André). — Les transformations en dehors de l'organisme et la signification de la cellule entoblasto-vitelline [*C. R. Assoc. Anat.*, 1935 (30^e réunion), p. 490-506].
- THOMAS (J. André). — Un mode nouveau de multiplication cellulaire directe : la méroamitose (*C. R. Acad. Sc.*, t. **201**, 1935, p. 988-990).

- THOMAS (J. André). — Recherches biochimiques sur la transformation expérimentale *in vitro* des cellules en histiocytes (*Ann. Physiol. et Physico-chim. biol.*, t. **12**, 1936, p. 43-47. Voir aussi : *C. R. Acad. Sc.*, t. **201**, 1935, p. 1431-1433).
- THOMAS (J. André). — La transformation des cellules en histiocytes (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1937, S. 299-324).
- TSCHISTOWITSCH (A. N.). — Ueber die Veränderungen des Lungenparenchyms und Stromas bei der Entzündung. III. Mitteilung über die Genese der Alveolarphagozyten (*Z. Zellforsch.*, Bd. **22**, 1935, S. 457-466) (*Bibl.*).
- TUMA (V.). — Contribution à la connaissance hématologique de la vésicule ombilicale de l'Homme [*C. R. Assoc. Anat.*, 1932 (27^e réunion), p. 533-559].
- TURCHINI (Jean) et BROUSSY (Jean). — Contribution à l'étude histologique de la glande byssogène des Lamellibranches. I. *Mytilus edulis* L. (*Bull. Soc. zool. de France*, t. **59**, 1935, p. 528-534).
- VAUBEL (Ernst). — The form and function of synovial cells in tissue cultures. I. Morphology of the cells under varying conditions (*J. exper. Med.*, t. **58**, 1933, p. 63-83 et 85-95).
- VERNE (Jean). — Observations sur l'épithélium pulmonaire de l'embryon de Poulet et du Poussin dans les cultures *in vitro* [*C. R. Assoc. Anat.*, 1932 (27^e réunion), p. 564-578].
- VERNE (Jean). — Considérations sur les états histochimiques des lipides [*Bull. Hist. appl.*, t. **14**, 1937, p. 269-278. Voir aussi : *Ann. physiol. et physico-chim. biol.*, t. **5**, 1929, p. 245-267 ; *Arch. Anat. microsc.*, t. **25**, 1929, p. 137-144 ; *Bull. Hist. appl.*, t. **13**, 1936, p. 433-440 ; *C. R. Assoc. Anat.*, 1937 (32^e réunion), p. 440-447 ; *Bull. Assoc. Anat.*, t. **42**, 1937, p. 1-12).
- VIRCHOW (Hans). — Beobachtungen am Hühnerei über das dritte Keimblatt im Bereich des Dottersacks (*Arch. mikrosk. Anat. u. Physiol.*, Bd. **62**, 1875, S. 566-568, et *Dissert.* Berlin, 1875).
- WIRCHOW (Hans). — Dotterzellen und Dotterfurchung bei Wirbeltieren (*Verh. deutsch. anat. Ges.*, Bd. **123**, 1892-1893, S. 209-219. Voir aussi : *Z. wiss. Zool.*, Bd. **53**, 1892 (Suppl.), S. 161-206, et *Arch. mikrosk. Anat. u. Physiol.*, Bd. **40**, 1892, S. 39-101).
- VÆLTZKOW. — Keimblätter, Dottersack und erste Anlage des Blutes und der Gefässe bei *Crocodilus madagascariensis* [*Abh. Senckenberg. Ges. Frankfurt*, Bd. **26**, 1900 (cité par DUBUISSON)].
- VOÏNOV (D.). — Structures ergastoblastiques. Dictyosomes (ergastoblastes), Parasomes, Corps vitellins de Balbiani, Interprétation de l'appareil réticulaire interne de Golgi (*Arch. Zoo. expér. et gén.*, t. **76**, 1934, p. 399-491).
- VOLKONSKY (Michel). — Digestion intracellulaire et accumulation des colorants acides (*Bull. biol. France et Belgique*, t. **67**, 1933, p. 135-275) (*Bibl.*).
- Voss (Hermann). — Beobachtungen über das Vorkommen der Plasmalfärbung. (*Z. mikrosk. anat. Forsch.*, Bd. **10**, 1927, S. 583-601. Voir aussi : *Klin. Wochenschr.*, 1929, S. 887-888).
- WALLBACH (Günter). — Untersuchungen über die Mitochondrien der mesenchymalen Zellen und deren Veränderungen bei besonderen Zellfunktionen (*Z. Zellforsch.*, Bd. **15**, 1932, S. 207-224).

- WALLBACH (Günter). — Die formalen Erscheinungen an kultivierten menschlichen Leukozyten bei Erkrankungen des leukopoetischen Apparates (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1936, S. 315-335. Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **11**, 1931, S. 169 (Diskussion zu den Vorträgen von: BLOOM, MÖLLENDORFF, TANNENBERG, SEEMANN).
- WASSERMANN (F.). — Die lebendige Masse. II. Teil. Wachstum und Vermehrung der lebendigen Masse. Die Amitose (in *Handb. mikrosk. Anat. des Menschen* (v. MÖLLENDORFF). Bd. **1**, 1929, verlag. Julius Springer, Berlin).
- WEATHERFORD (Harold L.). — Chondriosomal changes in connective-tissue cells in the initial stages of acute inflammation [*Z. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1933, S. 518-541 (*Bibl.*). Voir aussi : *Ibid.*, Bd. **15**, 1932, S. 343-373].
- WENSLAW (Ad.). — Nouvelles recherches sur la cellule nucléée de l'épithélium pulmonaire des Vertébrés (*C. R. Soc. biol.*, t. **103**, 1930, p. 809-810. Voir aussi : *Ibid.*, t. **104**, p. 611-615, et t. **106**, 1931, p. 863-867, 872-876).
- WERMEL (E. W.). — Studien über Zellengrösse und Zellenwachstum. IV. Mitteilung. Ueber Dimensionen der Samenzellen der Seidenraupe, ihre normale Variabilität unter der Einwirkung der ultravioletten Strahlen (*Z. Zellforsch.*, Bd. **17**, 1933, S. 505-517).
- WERMEL (E. W.) und IGNATJEWA (Z. P.). — Studien über Zellengrösse und Zellenwachstum. I. Mitteilung. Ueber die Grössenvariabilität der Zellkerne verschiedener Gewebearten (*Z. Zellforsch.*, Bd. **16**, 1932, S. 674-688) Voir aussi : *Ibid.*, S. 689-706, et *Ibid.*, Bd. **17**, 1933, S. 476-503).
- WINIWARTER (H. DE). — Continuités et mutations cellulaires (*Bull. Hist. appl.*, t. **10**, 1933, p. 285-291).
- WINNIKOW (J. A.). — Experimentell-histologische Untersuchungen über die retinalen Anteile der Regenbogenhaut und der Ziliarfortsätze (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **19**, 1936, S. 33-85).
- WINTREBERT (Paul). — Titres et travaux scientifiques, t. II, 1935, Hermann et C^{ie}, édit., Paris. Voir aussi : *C. R. Acad. Sc.*, t. **200**, 1935, p. 91-93.
- WINTREBERT (Paul). — Épigenèse physiologique et génétique (70^e Congrès des Soc. savantes, 1937, p. 287-292).
- WOLFF (Heinz-Lothar). — Das Verhalten von Epithel und Bindegewebe in der Kultur unter dem Einfluss schädigender, oberflächenaktiver Substanzen (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **16**, 1934, S. 70-96).
- WRIGHT (G. P.). — Presence of a growth stimulating substance in the yolk of incubated hen's eggs (*Proc. Soc. exp. biol. and Med.*, t. **23**, 1926, p. 603-605).
- WURMSER (R.). — Oxydations et réductions, 1930, 1 vol., 381 p., Les Presses Universitaires de France, édit., Paris.
- YUNG-KO-CHING (M.). — Contribution à l'étude cytologique de l'ovogenèse du développement et de quelques organes chez les Céphalopodes (*Ann. Inst. océanogr.*, t. **7**, 1930, p. 1-68).
- ZANONI (G.). — Problemi fisimorfologici del sacco vitellino degli ucelli studiati con la luce di Wood (*Boll. Mus. e Lab. Zool. e Anat. comp.*, t. **13**, 1933, p. 3-11).
- ZIEGLER (H. E.). — Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge der Nematoden (*Z. wiss. Zool.*, Bd. **60**, 1895, S. 361-410).
- ZIEGLER (H. E.). — Untersuchungen über die Zellteilung (*Verh. deutsch. Zool.*, 1895. Voir aussi : *Biol. Centralbl.*, Bd. **11**, 1891, S. 372-389).
- ZWEIBAUM (Jules). — Recherches cytologiques sur les cellules du sarcome de

- Rous cultivées *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **14**, 1933, S. 358-390.
Voir aussi : *Ibid.*, S. 391-411, et Bd. **19**, 1937, S. 209-210).
- ZWEIBAUM (Jules) et ELKNER (A.). — Les structures cytoplasmiques et l'appareil de Golgi dans les cellules cultivées *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **9**, 1930, S. 419-445).
- ZWEIBAUM (Jules) et SZEJNMAN (M.). — Recherches sur les cellules binucléées dans le tissu cultivé *in vitro* (*Arch. exper. Zellforsch.*, Bd. **18**, 1935, S. 102-126).
-

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I. — Entoblaste vitellin de quatre jours.

Culture épithéliale pure en flacon au cinquième jour. (Extrait d'embryon à 30 p. 100, dilué dans le sérum du Lapin à 25 p. 100, dans le liquide de TYRONE). État vivant.

PLANCHE II. — Cultures d'entoblaste vitellin.

1. Mosaïque épithéliale pavimenteuse (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g., vitellus déposé sur l'explant : 1 g. ; 2^e jour). État vivant. — 2. Même culture, au fort grossissement. État vivant. — 3. Restes basophiles des grosses enclaves de vitellus (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g. ; 3^e jour). Fix. : formol neutre 10 p. 100-RINGER. Color. hémato. de MINK. — 4. Espacement des cellules. Grains et enclaves de vitellus isolés ou en amas, même au delà du bord épithélial (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces ; 3^e jour). État vivant.

PLANCHE III. — Cultures d'entoblaste vitellin.

1. Grosses enclaves de vitellus en digestion et boules de graisses réfringentes (Pl. : 1 g., pl. Lapin : 1 g., e. e. à 15 p. 100 : 1 g. ; 3^e jour). État vivant. — 2. Espacement des cellules. Stades de la digestion des grosses enclaves de vitellus. N : noyau (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g. ; 4^e jour). État vivant. — 3 et 4. Évolution de l'épithélium. Cultures en milieu liquide (3, e. e. à 25 p. 100 : 1 g. ; 4^e jour ; 4, e. e. à 30 p. 100 : 1 g. ; 5^e jour). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. de KULTSCHITZKY. — 5. Aspect de l'épithélium à cellules allongées, étalées directement sur la lamelle, dans une zone de liquéfaction complète du coagulum (Pl. : 1 g., e. e. à 30 p. 100 : 1 g., vitellus sur l'explant : 1 g. ; 3^e jour). Fix. : formol neutre 10 p. 100-RINGER. Color. : hémato de MINK.

PLANCHE IV. — Cultures d'entoblaste vitellin de quatre jours.

1. Gros et petits noyaux. Quelques faisceaux (Pl. : 1 g., ovalbumine : 1 g., e. e. à 30 p. 100 : traces ; 4^e jour). Fix. : BOVIN. Imprégnation argentique (prolongée) selon DEL RIO HORTEGA-FOOT. — 2. Énorme plasmode à très nombreux noyaux. Des cellules uninucléées, de taille habituelle, sont libérées à sa périphérie. N : noyau (culture en flacon ; e. e. : 20 p. 100 dans le sérum du Lapin à 25 p. 100 ; 10^e jour). État vivant. — 3. Grosses enclaves de vitellus jaune et blanc. Allongement de celles-ci, serrées entre les faisceaux (ovalbumine : 1 g. ; 5^e jour). — 4. Orientation dirigée des faisceaux secondaires de part et d'autre d'un groupe épais de faisceaux principaux, en couronne (plus dense sur la photographie qu'en réalité : voir fig. 11). (Même milieu que 1 ; 7^e jour). Fix. : formol neutre 10 p. 100-RINGER. Color. : azan.

PLANCHE V-A. — Une cellule vitelline chargée d'enclaves de vitellus et de graisses, en métaphase.

Les trente chromosomes sont seuls violets, tout le reste est vert. Culture d'entoblaste vitellin de quatre jours. (Sérum : 1 g., 54 heures.) Fix. : sublimé acétique — RINGER. Réaction nucléaire de FEULGEN-ROSSENBECK, vert lumière (hydrolyse dans HCl 10 p. 100, six minutes à 56°).

PLANCHE V-B. — Culture pure d'entoblaste vitellin de quatre jours.

Formation de petits noyaux (n) par les gros (N) des cellules vitellines épithéliales. 1 et 2. Trois stades de la formation d'un petit noyau à partir d'une hernie latérale plus ou moins volumineuse, émise par un gros noyau ; division du plasmosome supportant la majeure partie de la chromatine. — 3. Petit noyau chevauchant encore le gros noyau dont il provient. — 4. Formation d'un petit noyau en calotte superficielle, sur un gros noyau

en partie déformé par des enclaves de vitellus. De 5 à 14, petits noyaux après leur formation par les gros. 7 = un gros en a émis trois petits, dont un (en haut) semble voué à la dégénérescence. Lorsque les petits noyaux résultent des gros, à la suite d'une division en calotte superficielle, la perte de substance des noyaux-souches est d'abord apparente, puis est comblée (de 9 à 14). 15 et 16, deux groupes de petits noyaux de taille minima [1, 2, 4 = e. e. dilué : 1 g., 26 heures ; alcool absolu iodé, hémato. de MINCK, carmin de BEST. 3 = sérum : 1 g., e. e. dilué : traces ; 2^e jour ; provient d'une culture en flacon. FIX. : NAVACHINE à 50 p. 100. Color. : hémato. ferrique, éosine-aurantia-orange. De 5 à 16 : PL. : 1 g., ovalbumine : 1 g., e. e. dilué : traces ; 4^e jour. FIX. : BOVIN. Imprégnation argentique (prolongée) selon DEL RIO HORTIGA-FOOT].

PLANCHES VI et VII. — Évolution ralentie d'un petit flot de cellules vitellines épithéliales, isolé à la périphérie d'une culture pure d'entoblaste vitellin de quatre jours.

Chaque stade est photographié à l'état vivant, au même grossissement. Analyser, à l'aide de la figure 9, les phénomènes nucléaires, la division et la clasmotose cytoplasmiques, ainsi que la libération d'enclaves vitellines (PL. : 1 g., e. e. dilué : traces, 6^e jour).

PLANCHE VIII. — Cultures d'entoblaste vitellin de cinq jours, en goutte pendante.

Auréole de croissance photographiée à l'état vivant au cours des premiers stades de la culture durable. 1. Troisième passage : début de l'émigration des grandes cellules chargées de vitellus en digestion et de graisses. — 2. Quatrième passage (provient de la culture précédente) : les cellules, encore très pourvues d'enclaves vitello-graisseuses, se multiplient et s'allongent. — 3. Cinquième passage (provient de la culture précédente) : les cellules encore notablement chargées d'enclaves vitello-graisseuses ont la disposition plexiforme des fibrocytes. — 4. Sixième passage (provient d'une culture de la même série que la précédente) : les enclaves vitello-graisseuses sont rares ; la culture acquiert et garde indéfiniment, au cours des passages ultérieurs, l'aspect typique d'une colonie de fibrocytes (PL. : 1 g., e. e. dilué : 1 g.).

PLANCHE IX. — Évolution des cellules vitellines épithéliales dans les cultures prolongées en flacon. État vivant.

1. Entoblaste vitellin de six jours : les cellules périphériques chargées de vitellus émigrent et tendent à s'étirer ; longs prolongements cytoplasmiques les reliant (14^e jour). — 2. E. v. de cinquante-trois heures : culture au troisième passage, en goutte pendante, passée en flacon. Aspect conjonctif des cellules encore chargées d'enclaves vitello-graisseuses, émigrant dans le coagulum (17^e jour au total).

PLANCHE X. — Aspect à l'état vivant de six cellules vitellines du type fibrocyte de grande taille, en multiplication ralentie en flacon (plasma hépariné) et sécrétant un produit comparable au vitellus.

L'endoplasme est rempli de grains de sécrétion, transformés par digestion, dans la région centrale des cellules, en grosses boules de graisses. — 1 (en bas), 2 et 3. Naissance des grains dans la zone de GOLGI. — 2. Émission de longs prolongements cytoplasmiques chargés de vitellus et qui semblent près de se rompre. — 4 et 5 (deux stades d'une même cellule) : en un jour les grains de vitellus se sont accumulés dans le prolongement hyalin P (1, 2, 4, 5 : 20^e passage ; 19^e, 26^e et 30^e jour en flacon. 3 : 11^e passage ; 20^e jour).

PLANCHE XI. — Transformation spontanée des cellules vitellines épithéliales en nombreuses cellules du type histiocyte chargées d'enclaves vitello-graisseuses. Évolution des mêmes cellules, photographiées à l'état vivant, à grossissement égal.

Le gros plasmode vitellin C disparaît progressivement et complètement, en donnant naissance à une quantité de cellules macrophages quise multiplient, s'espacent et prennent la forme ramifiée. Entoblaste vitellin de cinq jours. Culture pure en flacon (E. e. : 30 p. 100 dans le sérum du Lapin à 25 p. 100). Stade 1 : 18^e jour, les intervalles entre chaque stade et le précédent sont de : st. 2, 14 heures ; st. 3, 2 h. 30 ; st. 4, 3 h. 30 ; st. 5, 2 heures ; st. 6, 2 h. 15 ; st. 7, 13 h. 15 ; st. 8, 33 heures ; st. 9, 39 h. 30 (23^e jour).

PLANCHES XII et XIII. — Transformation progressive, par voie expérimentale, de cellules vitellines épithéliales, en nombreuses cellules du type histiocyte plus ou moins chargées d'enclaves vitello-graisseuses.

Stades évolutifs de quatre cellules repérées : A, B, C, D, photographiées à l'état vivant, un même grossissement faible (PL. XII), puis à un autre, plus fort (PL. XIII). Les flots

provenant d'une même cellule vitelline sont entourés d'un cercle. Transformation totale assez rapide des cellules A et D. Transformation lente de la cellule C. Observer particulièrement la transformation progressive de la cellule B, qui disparaît complètement. Entoblaste vitellin de quatre jours. Culture pure en flacon (E. e. : 30 p. 100 dans le sérum du Lapin à 25 p. 100 traitement par NaOH M/100 — RINGER, le 12^e jour). — Pl. XII: stade 1: 15^e jour; les intervalles entre chaque stade et le précédent sont de: st. 2, 42 heures; st. 3, 7 heures; st. 4, 15 heures; st. 5, 24 heures (20^e jour). — Pl. XIII: stades très voisins de ceux de la pl. XII, 1 correspond à 1 (Pl. XII); 2 à 3: 3 et 4 à 5.

PLANCHE XIV-A. — Libération de nombreuses cellules du type histiocyte par une grande cellule vitelline, dans une culture épithéliale pure d'entoblaste vitellin de quatre jours.

Le vitellus en digestion ou réduit en graisses, dans l'endoplasme, a été dissous par les réactifs. — V: reste basophile de vitellus en digestion, ou vitellus dans des cellules en libération. N: noyau; n: un noyau plus petit. Ce stade ne montre pas de cellules du type histiocyte en train d'être formées (E. e.; 30 p. 100, puis traitement par NaHO M/100-RINGER). Dix-neuvième jour en flacon. Fix.: formol neutre 10 p. 100-RINGER, acide acétique (2 p. 100). Color.: hémato. de MINK.

PLANCHE XIV-B. — Stades de la formation spontanée des cellules du type histiocyte par des cellules vitellines épithéliales dont on n'a représenté que le grand noyau N, avec son plasmosome P, supportant la majeure partie de la chromatine.

H: cellules du type histiocyte qui viennent d'être créées; nH, cH: noyau et cytoplasme des cellules du type histiocyte en individualisation. Ces éléments naissent sur une face de la cellule-mère, à la suite d'une division directe particulière: le noyau nH résulte d'une petite partie du noyau N, spécialement du plasmosome P, devenu très basophile; celui-ci est tout d'abord globuleux et émet des expansions (1 et 2), puis il y a division [3, 4 (où il y a coïncidence optique entre nH et P), 6]; le cytoplasme cH résulte d'une petite partie du cytoplasme maternel qui s'individualise en un lobe au-dessus de N (3, 4, 5, 6, 7). Le noyau de la cellule-mère peut être parfois lobé et le cytoplasme plissé (8). Les stades de 1 à 7 ont été choisis dans la culture ayant servi à l'observation prolongée à l'état vivant (fig. 21 et 22; comparer), fixée au sixième jour d'examen: formol 10 p. 100-acide acétique 5 p. 100-RINGER. Color.: hémato. ferrique de REGAUD. 8: E. v. quatre jours, en goutte pendante, provenant d'un flacon au septième jour, même technique.

PLANCHE XV. — Aspect des cellules du type histiocyte provenant des grandes cellules vitellines épithéliales (E. v. de quatre jours).

1 et 2. Les cellules récemment créées sont groupées, dans divers plans, en îlots isogéniques coronaires; elles ont une membrane ondulante (2). — 3 et 4. Formes d'invasion et d'évolution dans le coagulum de plasma: les cellules isolées tendent à s'espacer, à s'allonger, à se ramifier. Cultures en flacon (9^e au 16^e jour). État vivant.

PLANCHE XVI. — Cellules du type histiocyte issues des cellules vitellines épithéliales. État vivant.

1. Colonie entière au premier passage, provenant d'une culture d'entoblaste vitellin, transformé en flacon; quelques agglutinats, surtout dans l'explant. (Pl.: 1 g., e. e., 30 p. 100: 1 g., 2^e jour). — 2. Même culture, les cellules très espacées ont l'aspect de clasmotocytes ramifiés, avec une membrane ondulante localisée particulièrement à leurs extrémités. — 3 et 4. Formes d'évolution en flacon: 3, cellules allongées et petits agglutinats; 4, petites cellules ramifiées très minces et allongées.

PLANCHE XVII. — Passage expérimental à l'état de syncytium réticulaire, puis retour progressif à l'état libre des cellules du type histiocyte provenant de la transformation spontanée des cellules vitellines épithéliales. État vivant, deuxième passage.

1. Aspect des cellules traitées à nu par le trypano-bleu dans le plasma hépariné, puis recouvertes d'un coagulum nouveau: les unes ont accumulé très fortement le colorant et sont globuleuses; les autres, peu colorées, s'allongent, se ramifient et se soudent entre elles. — 3 (fig. 2 en réalité). Un syncytium réticulaire formé. — 2 (fig. 3 en réalité), et 4. Le même que le précédent, après un jour, puis après six jours, à la périphérie duquel des cellules du type histiocyte reprennent lentement leur individualité et redeviennent libres.

PLANCHE XVIII. — Cultures jeunes de cœur de huit jours.

1 et 2. Disposition des fibrocytes en membrane épithélioïde ; plusieurs caryocinèses (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g.). Fix. : formol neutre 10 p. 100-TYRODE. Color. : hémato. de MINCK. — 3. Dissociation spontanée d'une membrane épithélioïde ; les cellules émigrent isolément et se transforment fréquemment, dans ce cas, en cellules du type histiocyte (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces). Même technique. — 4. Transformation progressive, *in situ*, des fibrocytes en autant de cellules histiocytaires à membrane ondulante. La transformation se propage, de l'extrémité libre vers la base d'un cordon moniliforme de fibrocytes. (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces, 7^e jour). État vivant (*échelle : lire 50 μ*).

PLANCHE XIX. — Transformation spontanée des tractus de fibrocytes d'une culture de cœur de huit jours, en une série de cellules du type histiocyte. État vivant.

1. Les fibrocytes émettent des lobopodes nombreux. Les cellules histiocytaires prennent naissance sur les fibrocytes, sous forme de lobes arrondis, puis émigrent (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces, 9^e j., 12^e p.). — 2. Transformation analogue, à un stade beaucoup plus évolué ; quelques cellules en dégénérescence (*échelle : lire 50 μ*).

PLANCHE XX. — Transformation spontanée des tractus de fibrocytes d'une culture de cœur de huit jours, en une série de cellules du type histiocyte : macrophages arrondis à membrane ondulante étalée sur verre et quelques cellules allongées à membrane ondulante plissée.

Les macrophages apparaissent sous forme de lobes très denses et très basophiles sur les tractus de fibrocytes (observer le long tractus inférieur). Accumulation considérable de lipines dans les cellules en transformation. (Sérum : 1 g., 4^e j., 6^e p.). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato de KULTSCHITZKY.

PLANCHE XXI. — Cellules histiocytaires provenant de la transformation spontanée des fibrocytes de cœur de huit jours. État vivant.

1 et 2. Agglutinats de macrophages arrondis, dans un coagulum de plasma ; les cellules libres ou à la périphérie des agglutinats ont une membrane ondulante. — 3 à 5. Évolution de cellules histiocytaires ramifiées, provenant de la transformation d'un cordon de fibrocytes. 4 : 18 heures après 3 ; 5 : 8 h. 30 après 4. (Pl. : 1 g., e. e. : traces). (*échelles : lire 100 μ et 50 μ*).

PLANCHE XXII. — 1. Stade du début de la formation spontanée d'une cellule du type histiocyte par un fibrocyte d'une culture de cœur.

La plus grande partie de la substance chromatique du noyau est condensée sur un plasmosome volumineux, très basophile, émettant des expansions. Groupement dense du chondriome dans l'endoplasme, autour du noyau ; quelques boules de graisses. L'exoplasme se développe et se plisse, surtout longitudinalement. (Sérum : 1 g., e. e. dilué : traces ; 6^e jour). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. ferrique de REGAUD (fortement différenciée).

2. — Macrophage provenant de la transformation spontanée d'un fibrocyte d'une culture de cœur.

Noyau arrondi excentré ; endoplasme central, dense et granuleux (région de la centrosphère) ; quelques enclaves graisseuses ; chondriocontes et chondriomites disposés en rayons autour de la zone centrale ; hyaloplasme développé en membrane ondulante plissée. (Sérum : 1 g., e. e. dilué : traces, 6^e jour). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. ferrique de REGAUD.

PLANCHE XXIII. — Stades de la formation spontanée des cellules du type histiocyte par des fibrocytes d'une culture de cœur.

N : noyaux des fibrocytes, avec un ou deux plasmosomes P, recouverts de chromatine ; L : amas de lipines condensées ; nH, cH : noyau et cytoplasme des cellules du type histiocyte en formation. Ces cellules naissent sur une face de la cellule-mère, à la suite d'une division directe particulière. — 1. Le noyau arrondi nH résulte d'une partie du noyau N, spécialement dans la région d'un plasmosome très basophile, émettant encore une expansion ; le cytoplasme cH résulte d'une partie du cytoplasme souche qui commence à s'individualiser au-dessus du noyau N et de la région juxta-nucléaire, sous forme d'un lobe basophile chargé de lipines, parfois condensées en amas. L'endoplasme du fibrocyte souche est basophile, très chargé de lipines et renferme quelques globules de

graisses ; l'exoplasme se plisse. — 2. Jeune cellule histiocytaire, après la division directe qui vient de lui donner naissance, encore située au-dessus du noyau N de son fibrocyte souche (le cytoplasme de celui-ci n'est pas représenté, de même qu'au stade 3). Le noyau nH est peu éloigné du plasmosome originel P, vu à travers le cytoplasme cH ; ce dernier est très chargé de lipines diffuses ; plusieurs boules de graisses. — 3. Jeune cellule histiocytaire, très chargée de lipines diffuses, commençant à quitter la région du noyau de son fibrocyte souche ; nH est encore voisin de P. Développement de la membrane ondulante autour du cytoplasme cH. — 4. Un macrophage complètement formé, pourvu d'une large membrane ondulante, est près d'abandonner son fibrocyte souche, auquel il semble encore adhérer, dans la région du noyau N, par un étirement cytoplasmique postérieur. Ces stades proviennent de la préparation planche XX. Comparer avec les stades planche XIV-B.

PLANCHE XXIV. — Régénération d'une culture de fibrocytes de cœur se transformant spontanément en cellules du type histiocyte. État vivant.

1. La partie périphérique de la culture est surtout constituée par des cellules histiocytaires émigrant dans le coagulum ; la partie centrale, très largement excisée, est en régénération. — 2. Cette partie centrale est presque complètement reformée par des cellules histiocytaires. — 3. Formation d'une série de macrophages arrondis, entourés d'une membrane ondulante, par un tractus fibrocytaire, dans la zone de régénération (comparer avec la figure 23 et les planches XIX 1, XX, XXIII). — 4. Îlots isogéniques coronaires de cellules histiocytaires, dans la partie périphérique de la culture (comparer à la Pl. XV 1. — 5. Aspect des cellules de ces îlots isogéniques (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces ; excision le 10^e j. et renouvellement du coagulum ; 1 et 3 : le 5^e j. plus tard ; 2, 4, 5 : le 6^e j.).

EXPLICATION DES PLANCHES EN COULEUR

PLANCHE XXV. — Les trois états évolutifs de la cellule vitelline en culture.
Coloration vitale au rouge neutre des vacuoles et des enclaves de vitellus.

De 1 à 7. Entoblaste vitellin épithélial de quatre jours. 1 : vacuoles colorées et non polarisées autour du noyau. Des grains de vitellus jeunes et des boules de graisses ne sont pas colorés. Des grains de vitellus en digestion prennent le rouge neutre. — De 2 à 7. Stades de la digestion des enclaves de vitellus (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces ; 3^e jour). — 8. Cellule vitelline se transformant en cellule du type fibrocyte. Les vacuoles périnucléaires tendent à être polarisées ; elles sont colorées, ainsi que quelques enclaves de vitellus en digestion. Boules de graisses (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g. ; 3^e jour ; 6^e p.). — 9. Cellule vitelline du type fibrocyte en multiplication active, un peu étalé. Vacuoles colorées, polarisées d'un côté du noyau. Boules de graisses (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g. ; 37^e p.). — De 10 à 13. Cellules vitellines du type fibrocyte étalées, en multiplication ralentie. Les vacuoles et le vitellus en digestion sont colorés. — 13. Une enclave de vitellus presque complètement digérée. (Sérum : 1 g. ; 3^e jour ; 38^e p.). — 14. Cellule vitelline du type histiocyte. Les vacuoles colorées, non polarisées, sont autour d'une zone active. Les grains de vitellus ne sont pas colorés, sauf quelques-uns en digestion (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces ; 10^e jour ; 2^e p. à l'état histiocytaire).

PLANCHE XXVI. — Trois cellules vitellines épithéliales en culture dans une goutte d'extrait embryonnaire dilué.

1. Chondriocotes dans l'endoplasme et même, dans l'hyaloplasme. Mitochondries entre les enclaves. Le vitellus, très digéré, a été dissous par les réactifs, sauf quelques boules colorées par la rubine. Noyau déformé par les enclaves. Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : VOLKONSKY. — 2 et 3. Lipines du vitellus (ou corps non saturés), insolubilisées par la chromisation. 2 : stade en digestion moyenne du vitellus ; enclaves colorées en rouge-brique (dont une avec un résidu basophile) et en orangé, par le soudan III (équivalent de la méthode de CRACCIO). Lipophanérose dans le cytoplasme. Chondriocotes. Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. de MINK-Soudan III. Montage au sirop d'APATHY. 3 : stade de digestion avancée du vitellus ; quelques boules ou grains de lipines bleu noir et boules brunes. Les enclaves de glycérides, dissoutes par les réactifs, sont entourées de grains ou d'un liséré lipinique. Lipophanérose peu importante dans le cytoplasme. Chondriocotes. Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. de KULSCHITZKY.

PLANCHE XXVII.

1. Aspect des structures fibrillaires d'une culture épithéliale pure d'entoblaste vitellin de quatre jours. Des faisceaux et des fibres, situés sur les cellules, sont colorés par le bleu d'aniline. De fines fibrilles sont teintées en rouge par l'azocarmin. Vitellus digéré, dissous. Noyaux de grande et d'assez petite taille. (Pl. : 1 g., e. e. dilué : 1 g. ; 6^e jour). Fix. : formol neutre 10 p. 100-RINGER. Color. : azan. — 2. Fibres et faisceaux dans une culture de fibrocytes provenant de la transformation des cellules de l'entoblaste vitellin épithélial. Grains et enclaves de vitellus en digestion dans les fibrocytes étalés sur la lamelle. (Sérum : 1 g., e. e. dilué : traces ; 3^e jour ; 22^e p.). Fix. : formol neutre 10 p. 100-RINGER, postchromisation selon DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. de KULSCHITZKY.

PLANCHE XXVIII. — Sécrétion d'un produit comparable au vitellus, chez la cellule vitelline transformée en cellule du type fibrocyte et mise en multiplication ralentie.

1. Formation de grains basophiles, envacuolés, dans une zone de GOLGI légèrement chargée de lipines diffuses, polarisée d'un côté du noyau. Les grains grossissent et s'accumulent, surtout dans la partie du cytoplasme opposée au sens de la progression de la cellule. Deux petits amas de grains lipiniques. Chondriocotes abondants, longs, grêles,

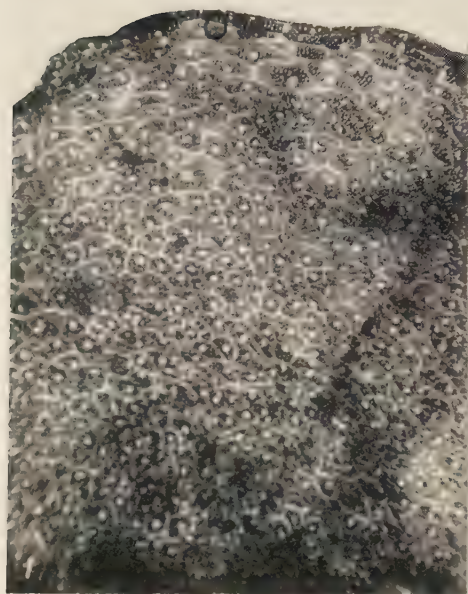
non vésiculés. — 2. Stade plus évolué. Zone de GOLGI, polarisée, chargée de lipines diffuses. Les grains de sécrétion sont devenus surtout lipiniques et s'accumulent dans un pôle excréteur, où ils fusionnent en grosses enclaves. Excrétion de grains isolés et d'une enclave. — 3. Stade très évolué. Accumulation considérable d'enclaves vitellines, en partie digérées, dans un pôle excréteur hypertrophié. Le noyau et la zone de GOLGI, nettement limitée et riche en lipines diffuses, sont repoussés. Un grain de vitellus libre sur le noyau. — 4. Centrosphère dans une cellule très évoluée. Indépendance de la centrosphère et de la zone de GOLGI polarisée. Cellules du type fibrocyte provenant de l'entoblaste vitellin de quatre jours (Pl. : 1 g., e. e. dilué : traces ; 7^e jour ; 25^e p.). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. ferrique de REGAUD-Soudan III. Montage au sirop d'APATHY.

PLANCHE XXIX.

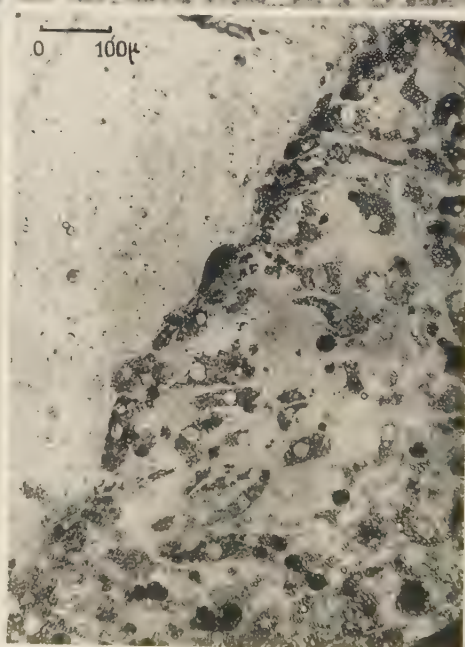
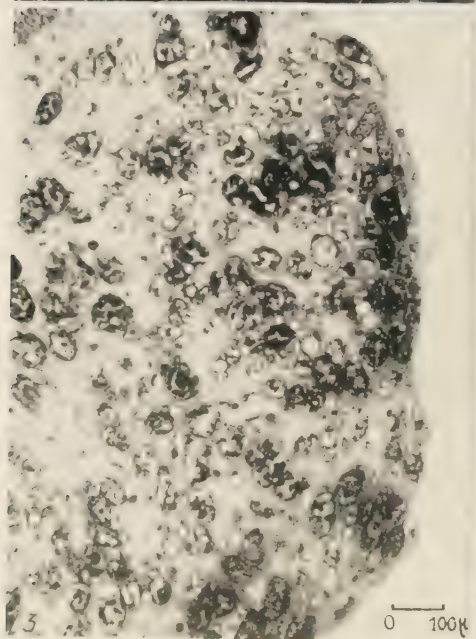
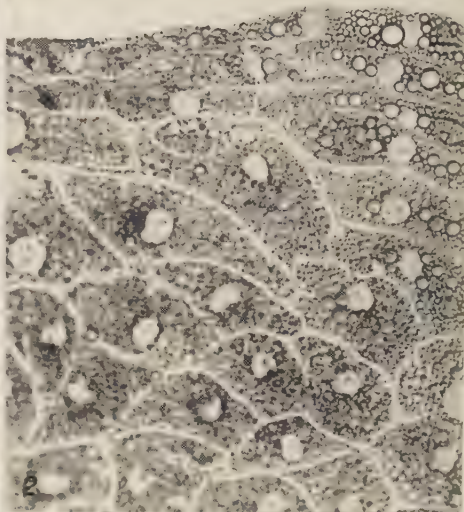
1 et 2. Sécrétion spécifique d'un produit comparable au vitellus, chez deux grands macrophages à membrane ondulante étalée, provenant de la transformation de cellules vitellines épithéliales (entoblaste de quatre jours). 1 : formation, à la périphérie de la zone de GOLGI, de grains de sécrétion, d'abord surtout basophiles, ensuite principalement lipiniques. Les chondriocontes assez abondants et grêles ne sont pas vésiculés. 2 : grains de sécrétion achevés et quelques boules de graisses ; zone de GOLGI chargée plus intensément en lipines diffuses ; chondriocontes peu nombreux (Pl. : 1 g., TYRODE : 1 g., e. e. dilué : traces ; 4^e jour). Fix. : DIETRICH-PARAT. Color. : hémato. ferrique de REGAUD-Soudan III. Montage au sirop d'APATHY. — 3. Un macrophage accolé au fibrocyte dont il provient, dans une culture de fibrocytes de cœur se transformant spontanément en cellules histiocytaires (même culture que Pl. XX et XXIII, comparer). Macrophage arrondi, à endoplasme chargé de lipines diffuses, entouré d'une membrane ondulante dont les plis prennent intensément la coloration bleu noir des lipines. Condensation des lipines en grosses boules (sans rapport avec des grains de sécrétion), dans l'endoplasme des fibrocytes.

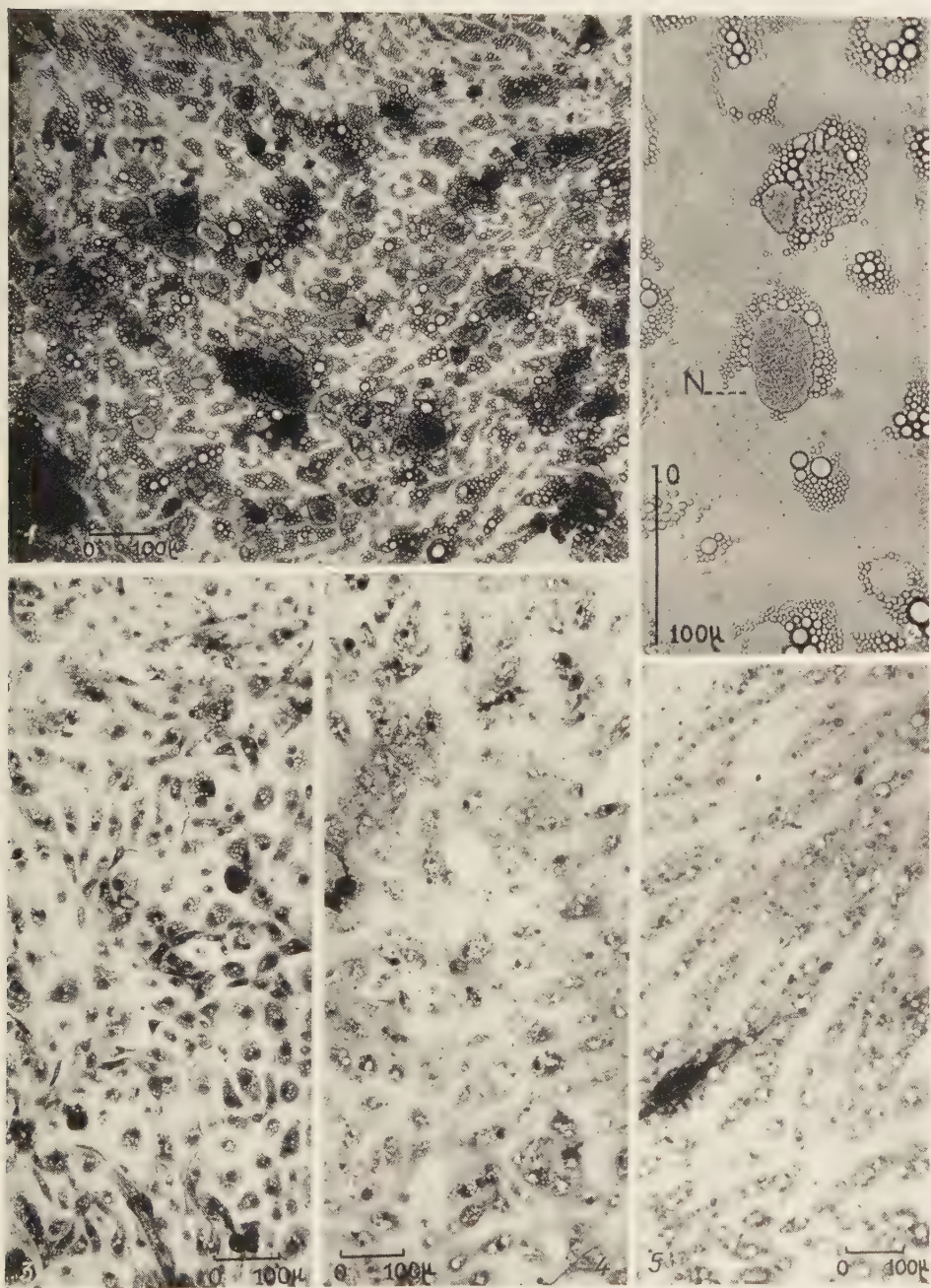
1984-6-38. — CORBEIL. IMPRIMERIE CRÉTÉ.

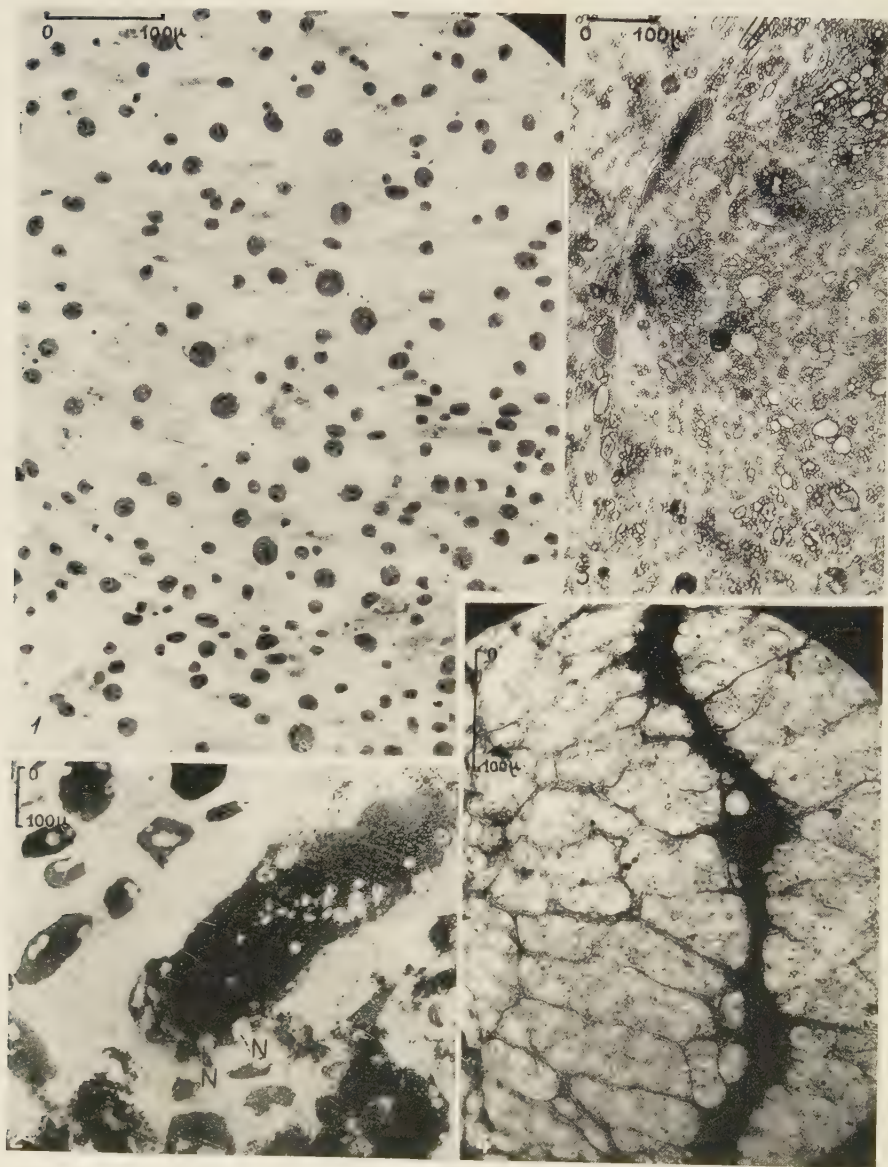


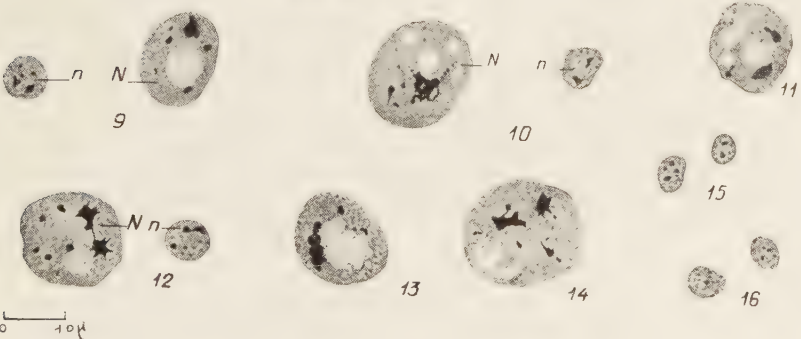
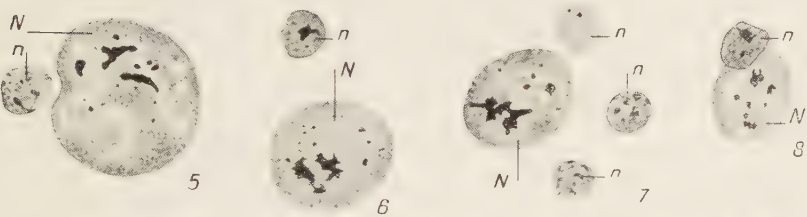
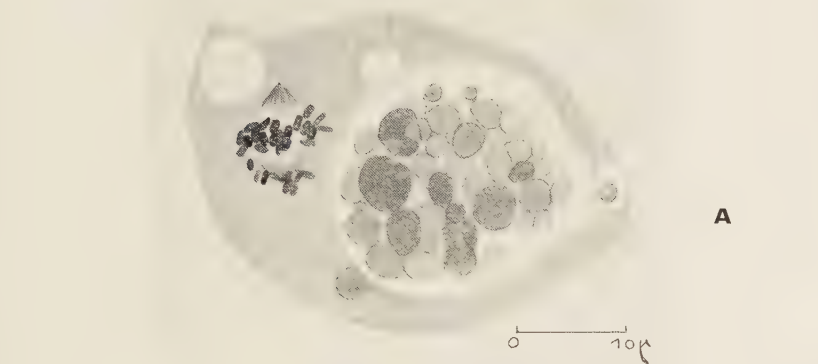


0 100μ

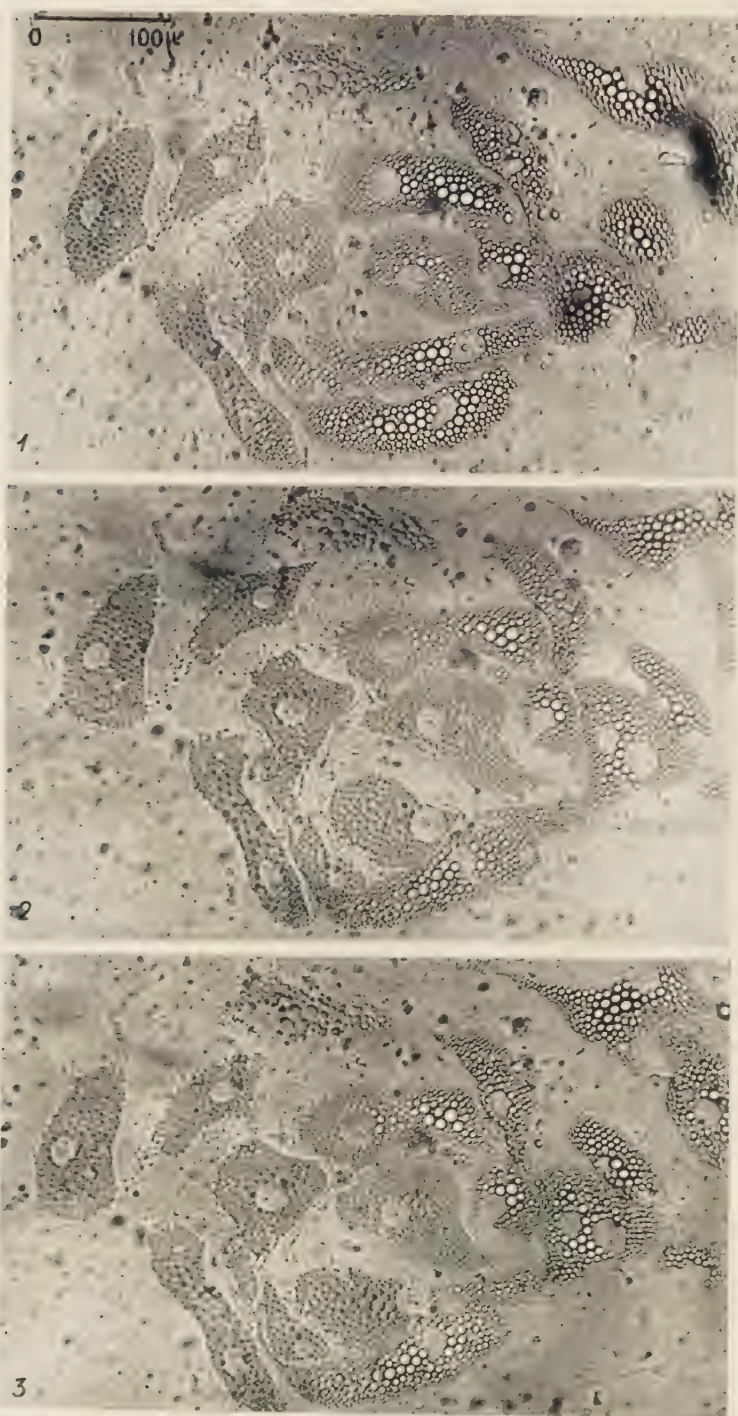


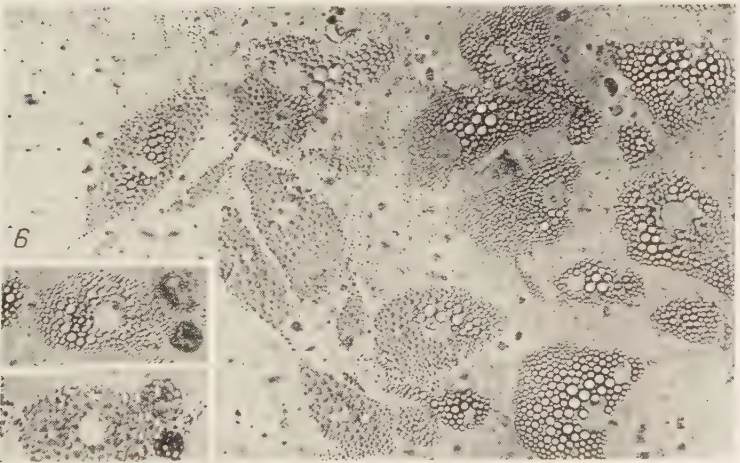
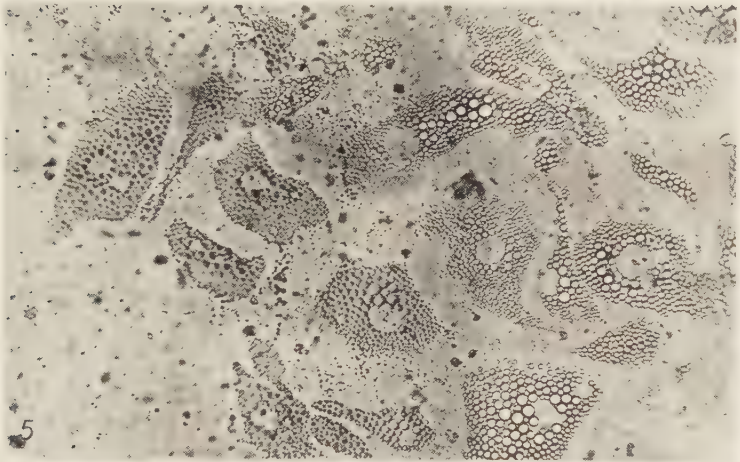
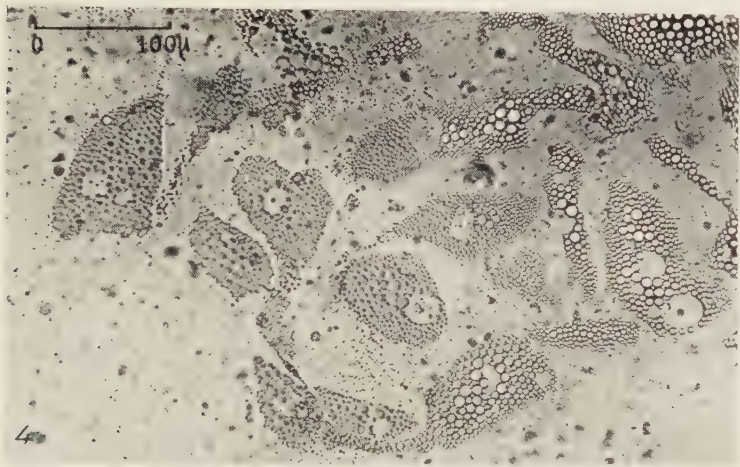


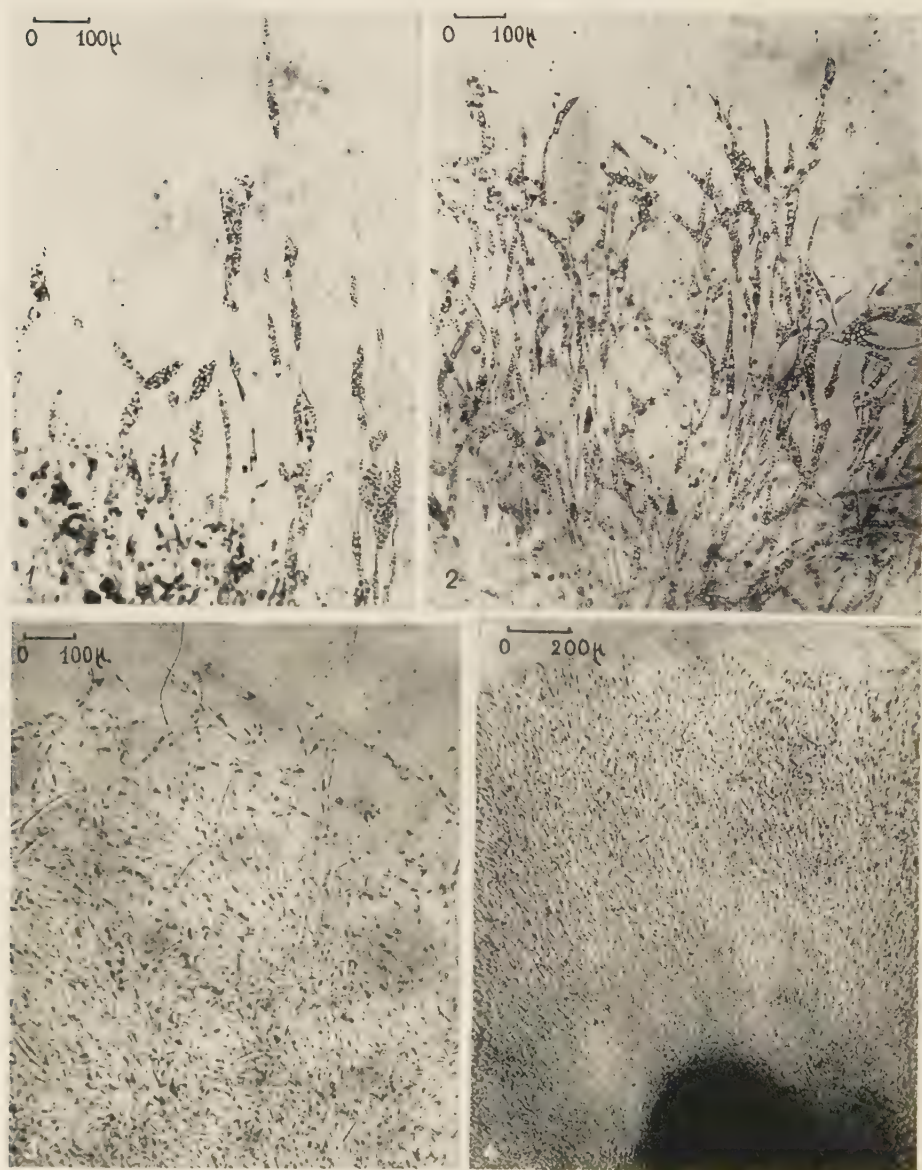


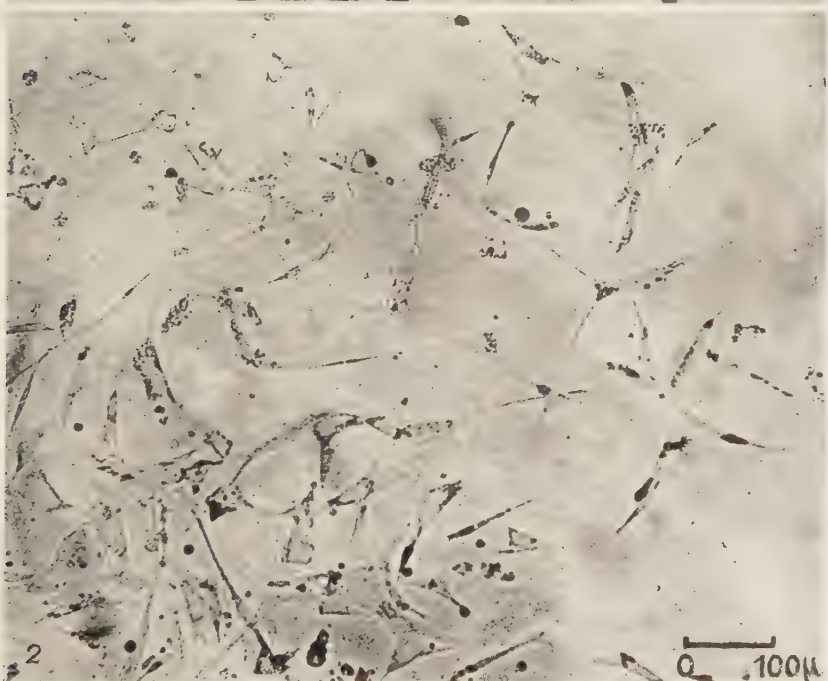
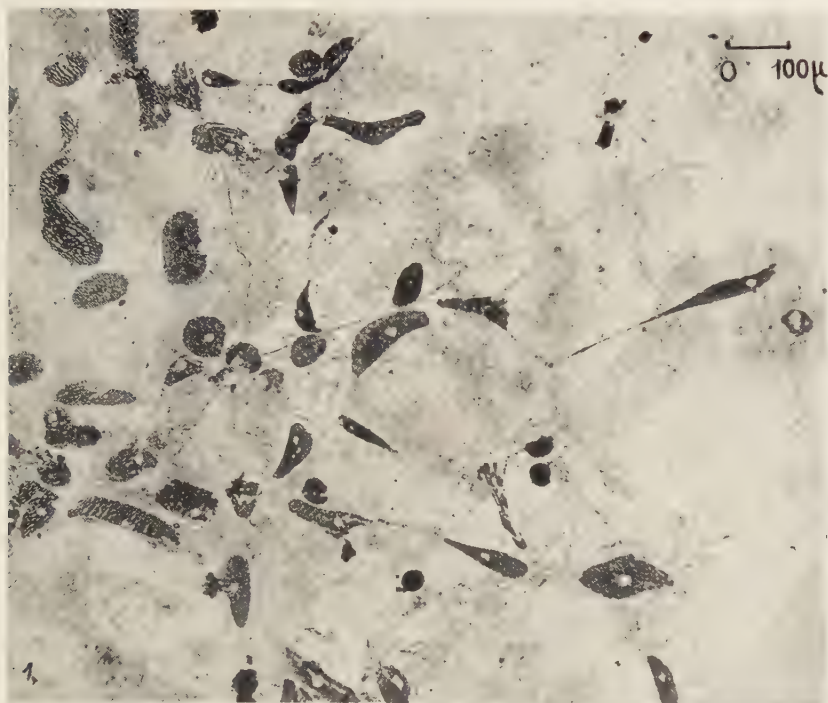


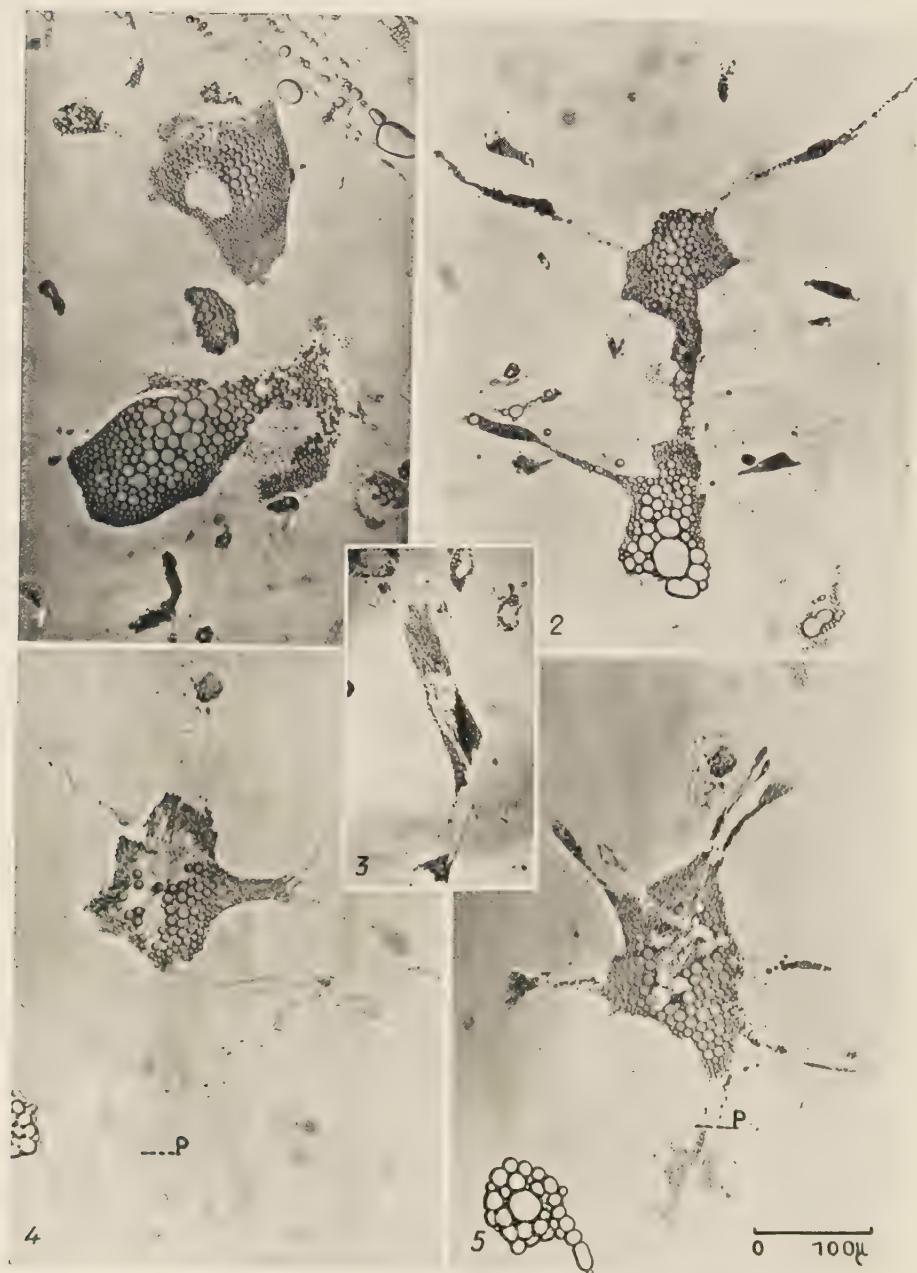
B

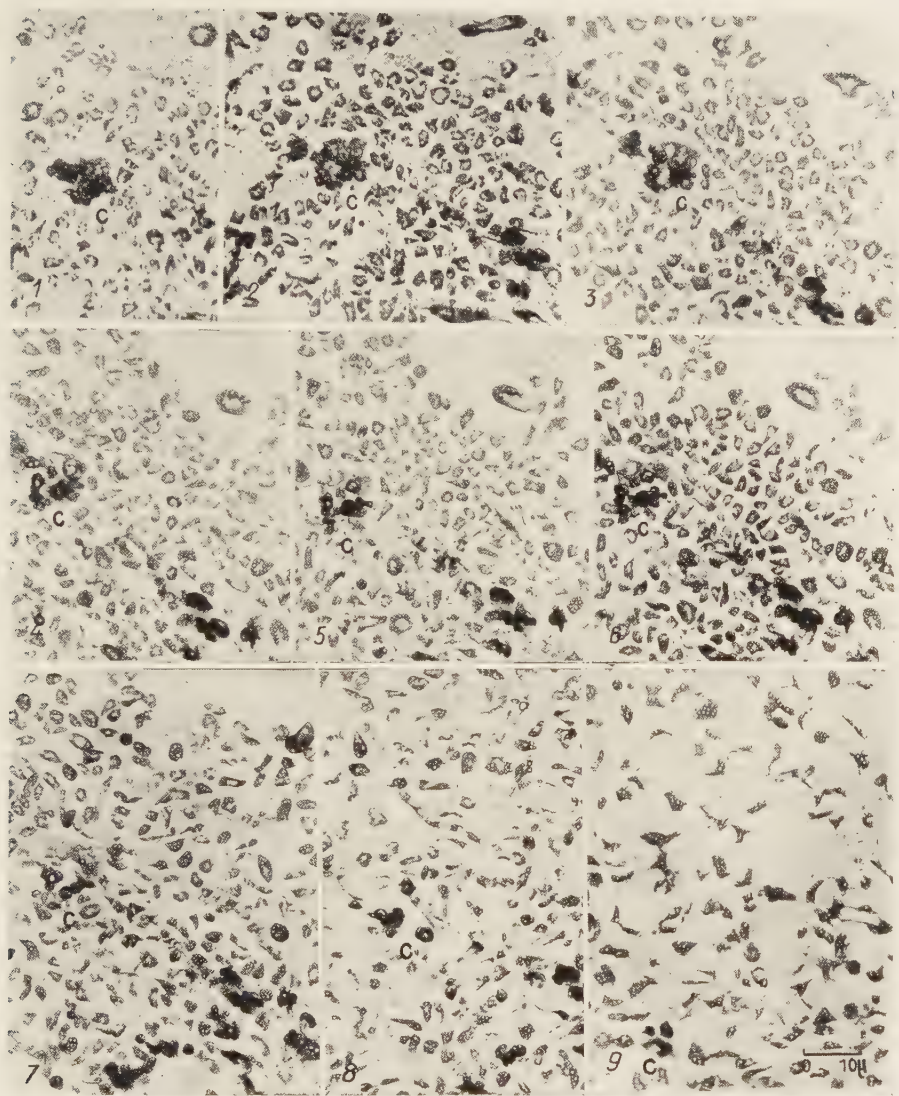


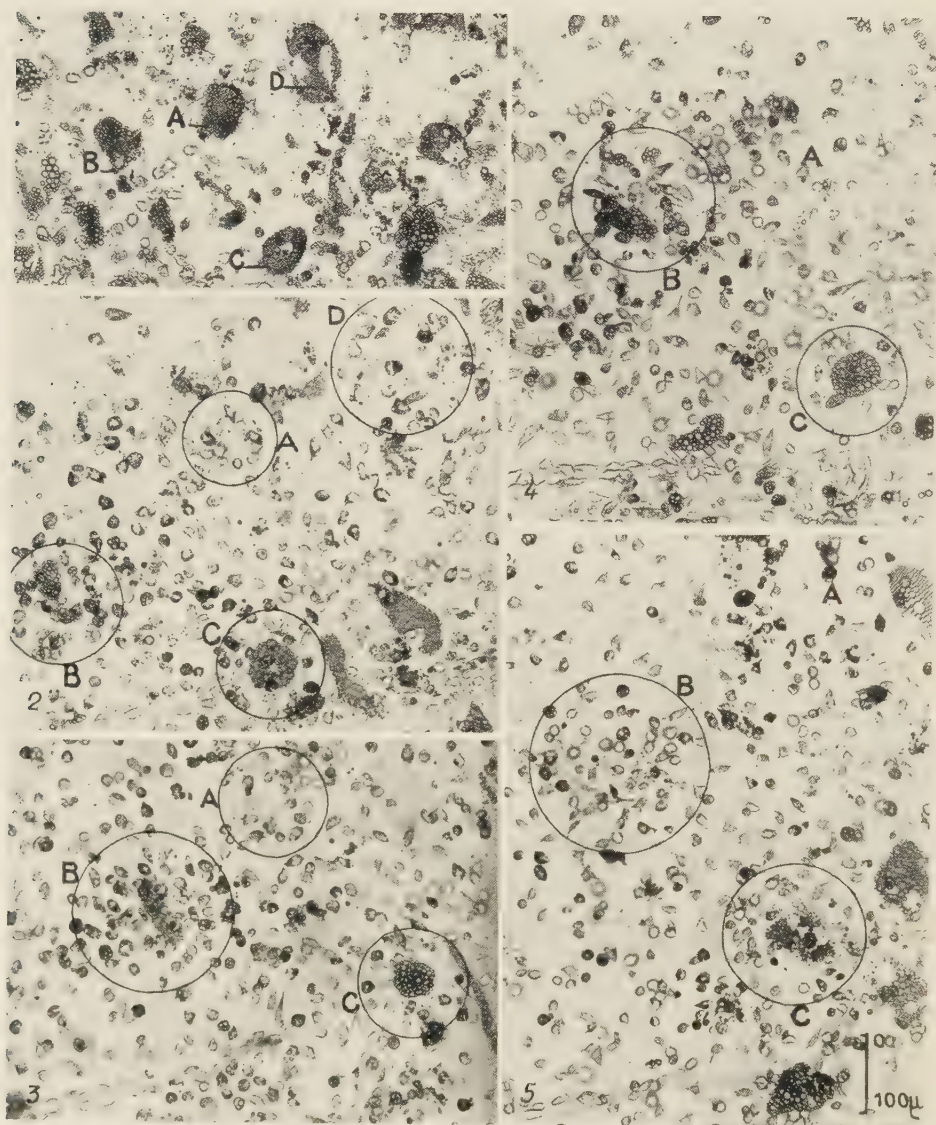


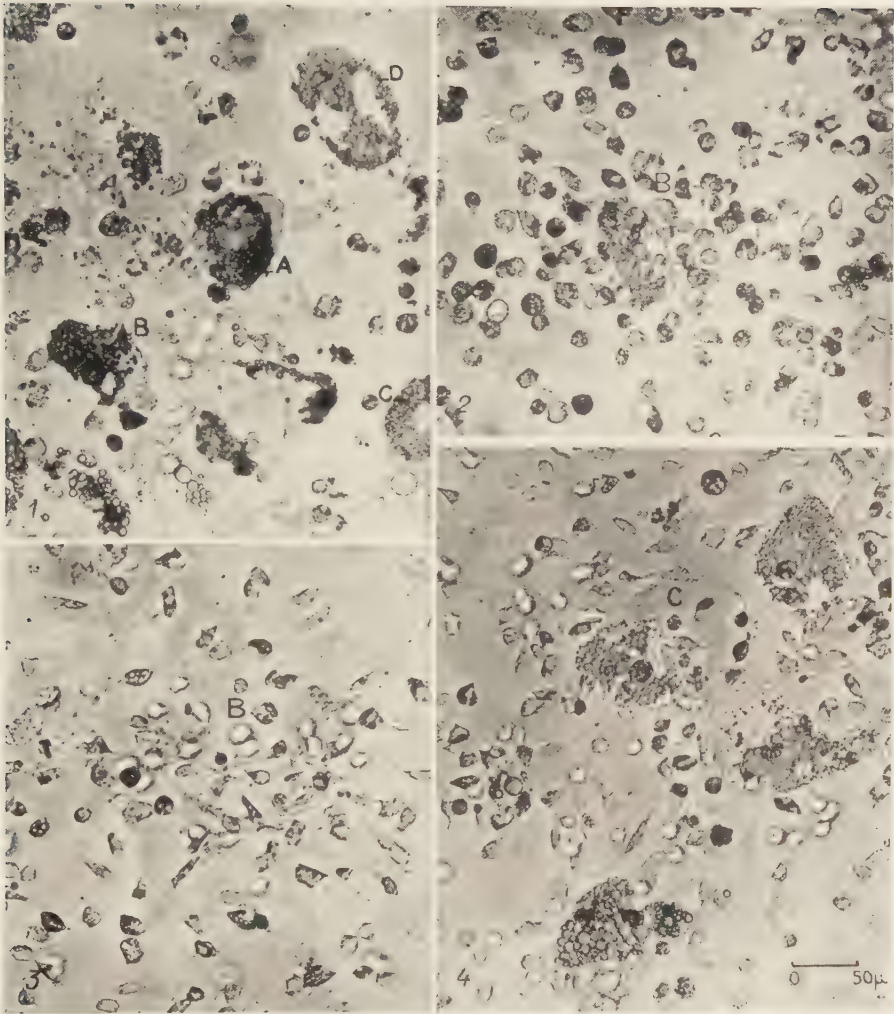


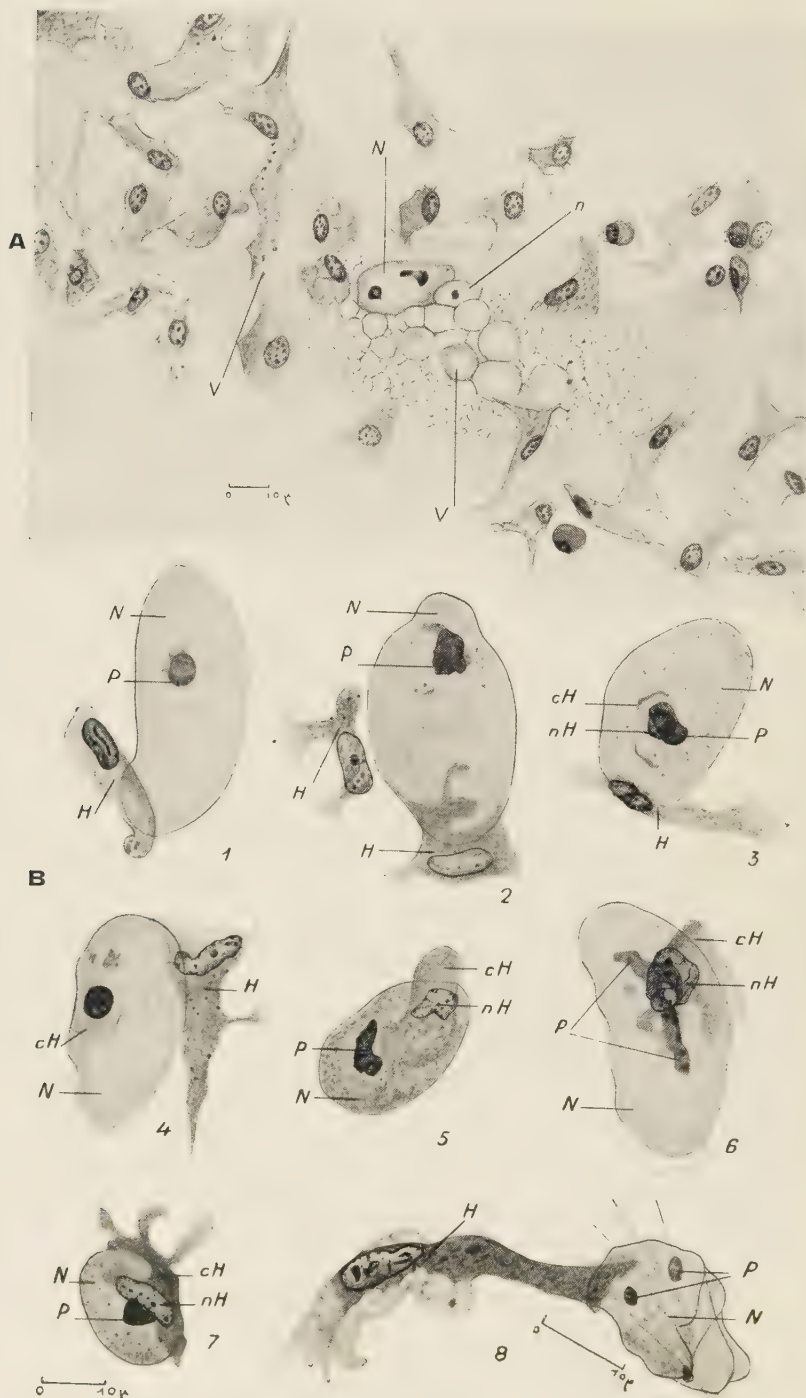


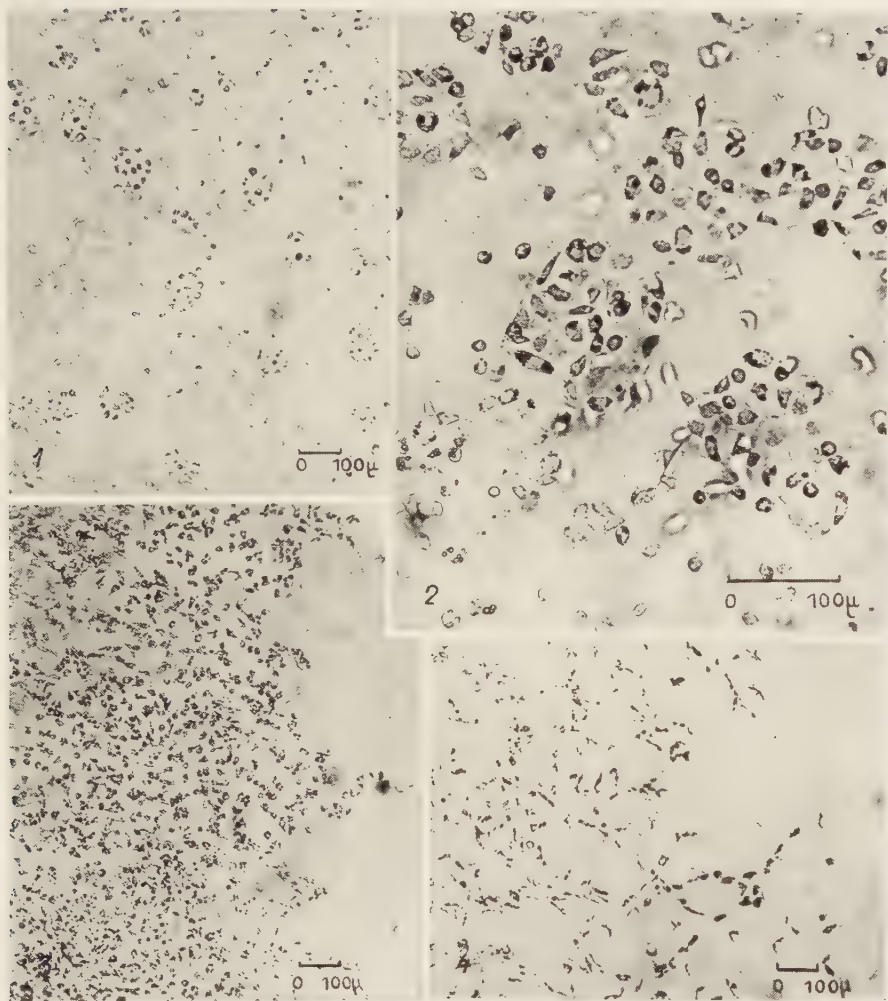


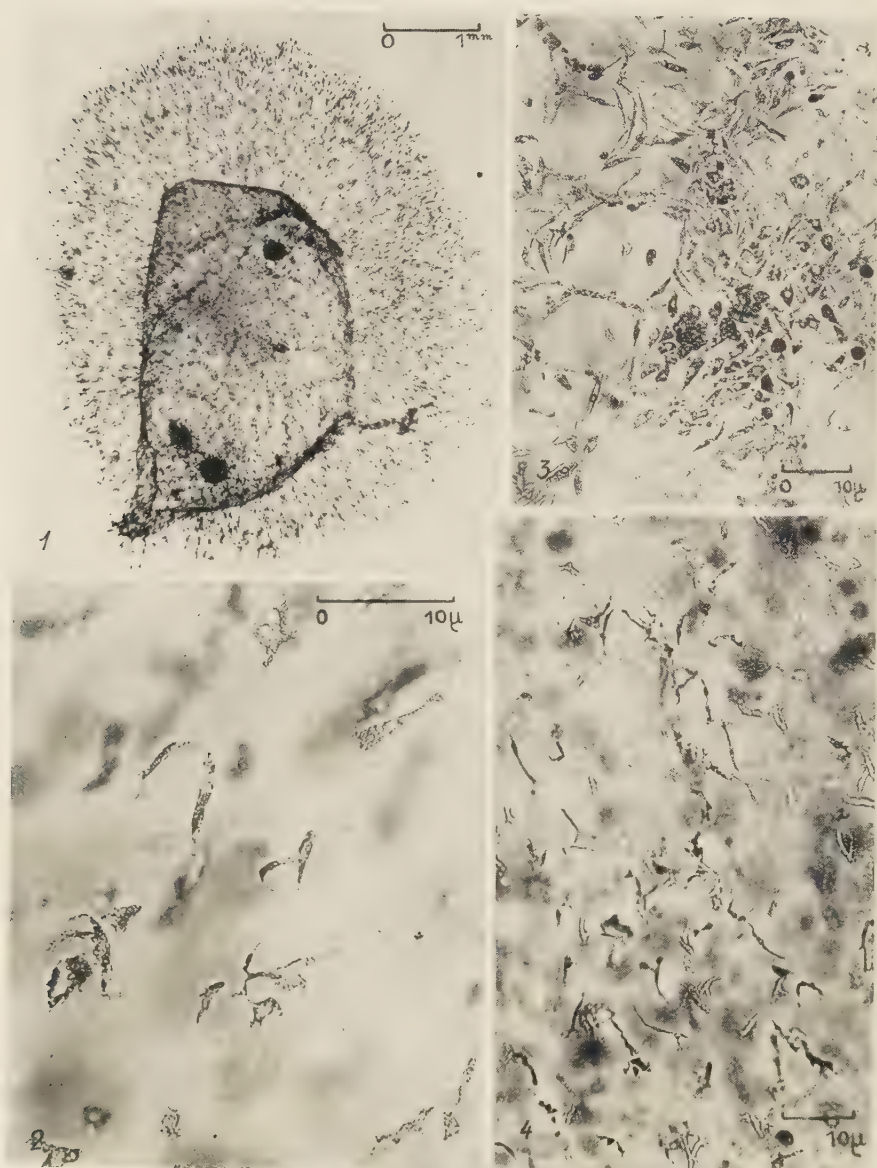


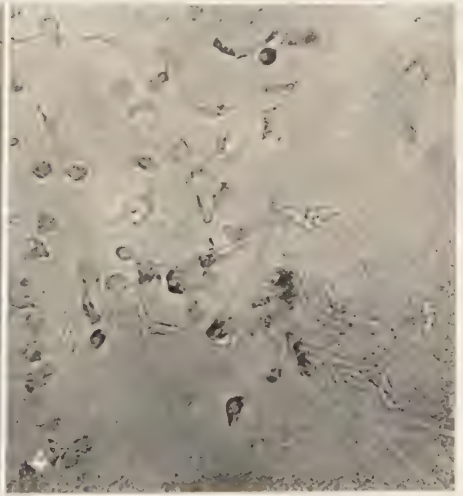
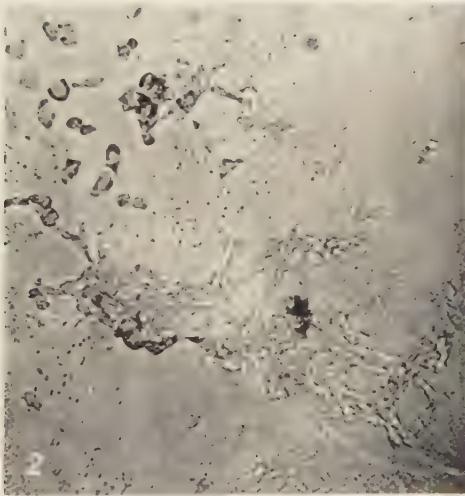
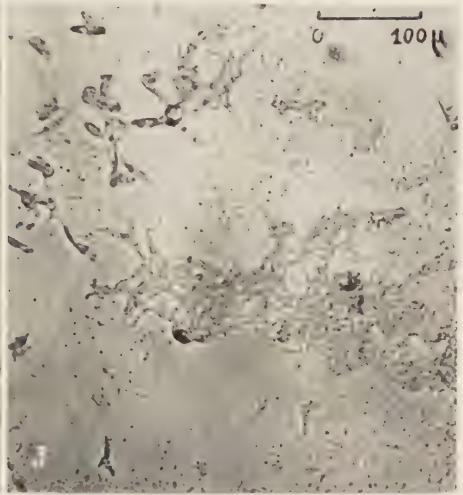
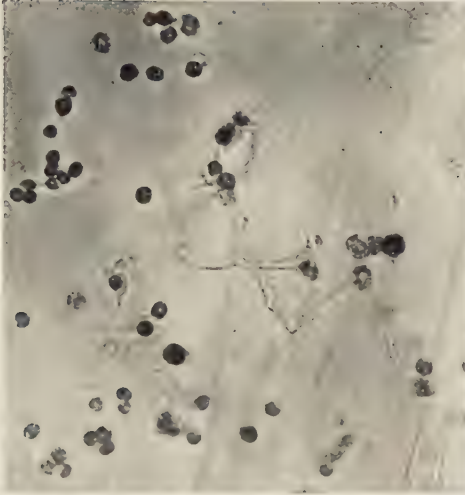


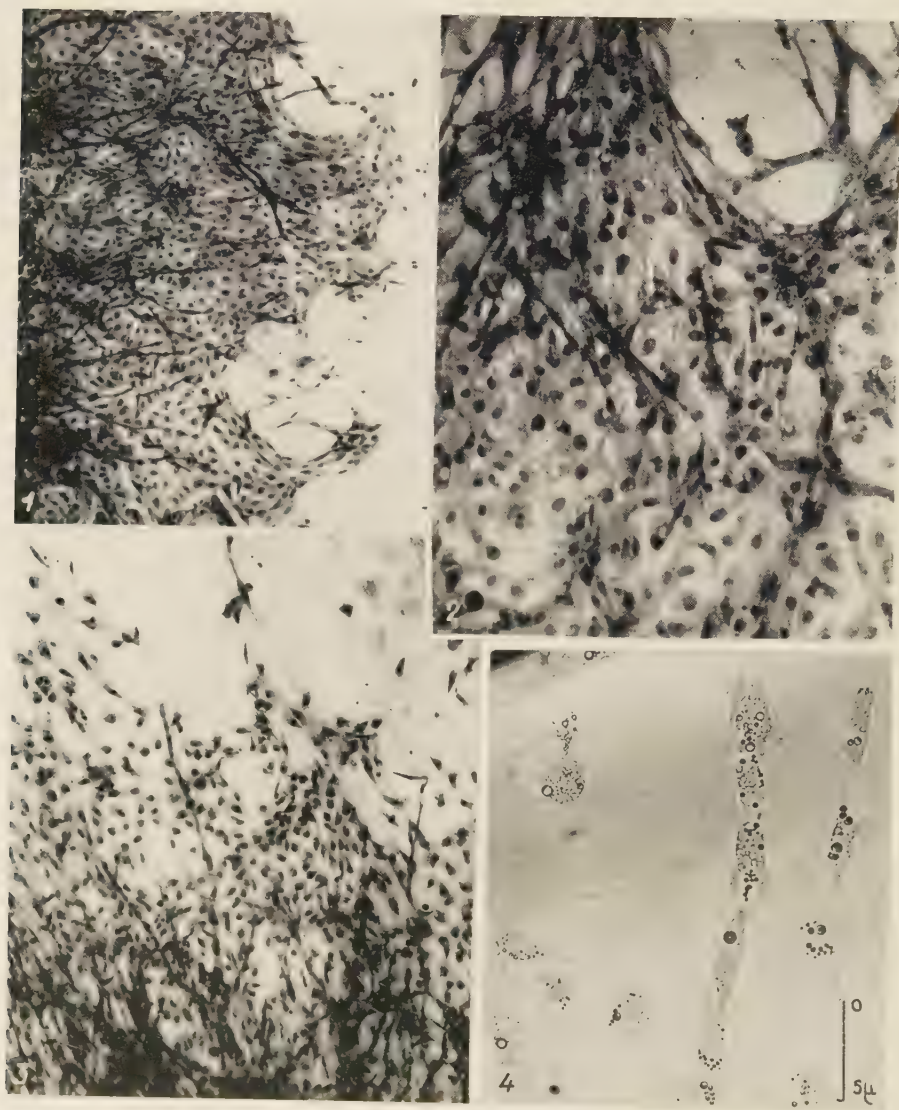


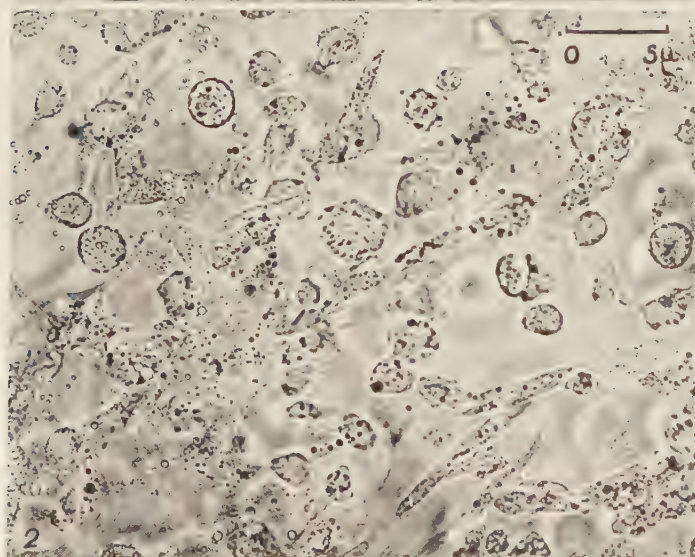
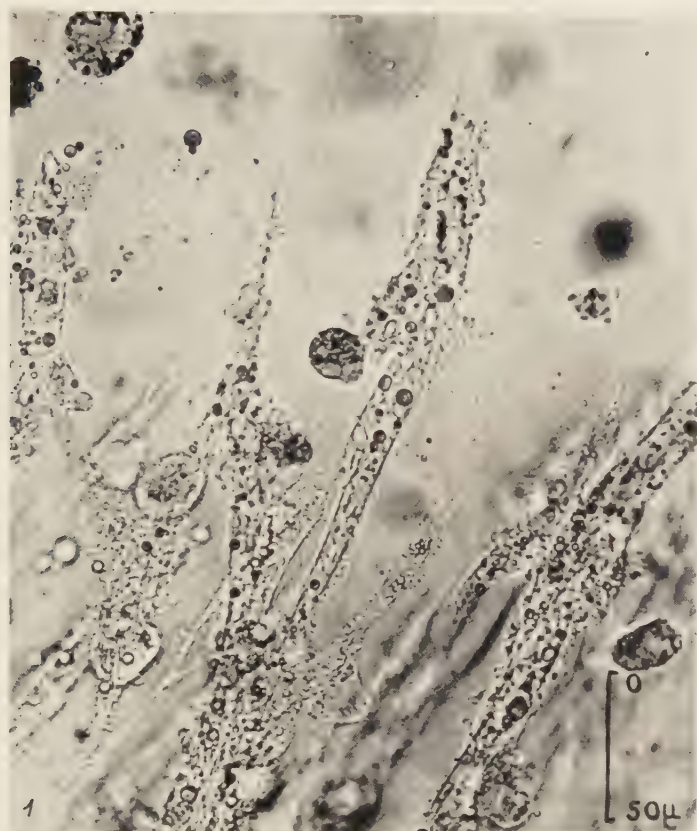




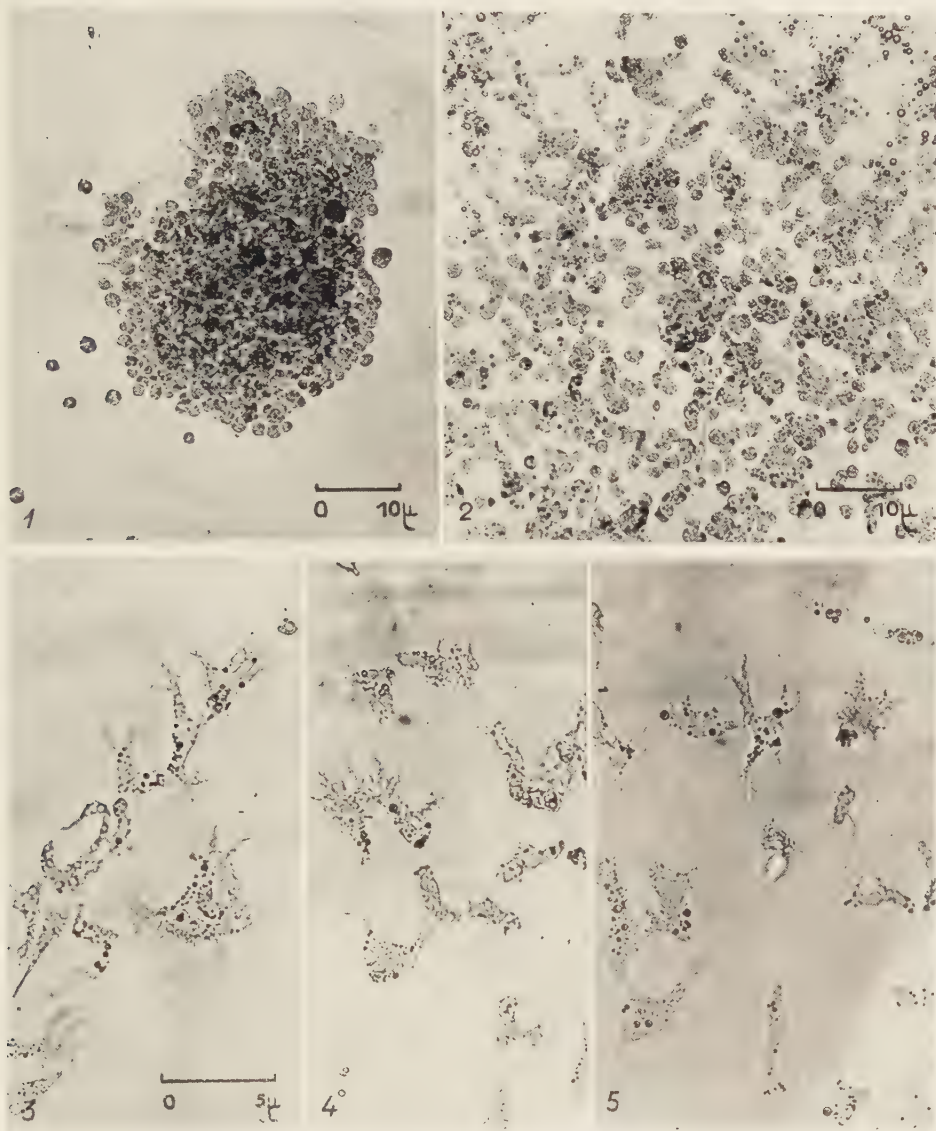


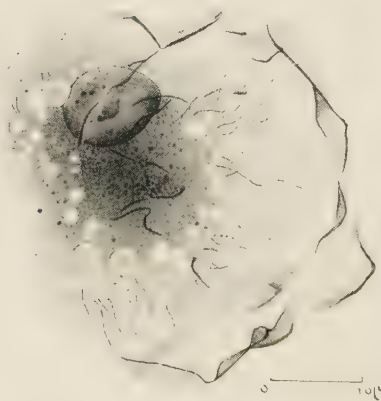


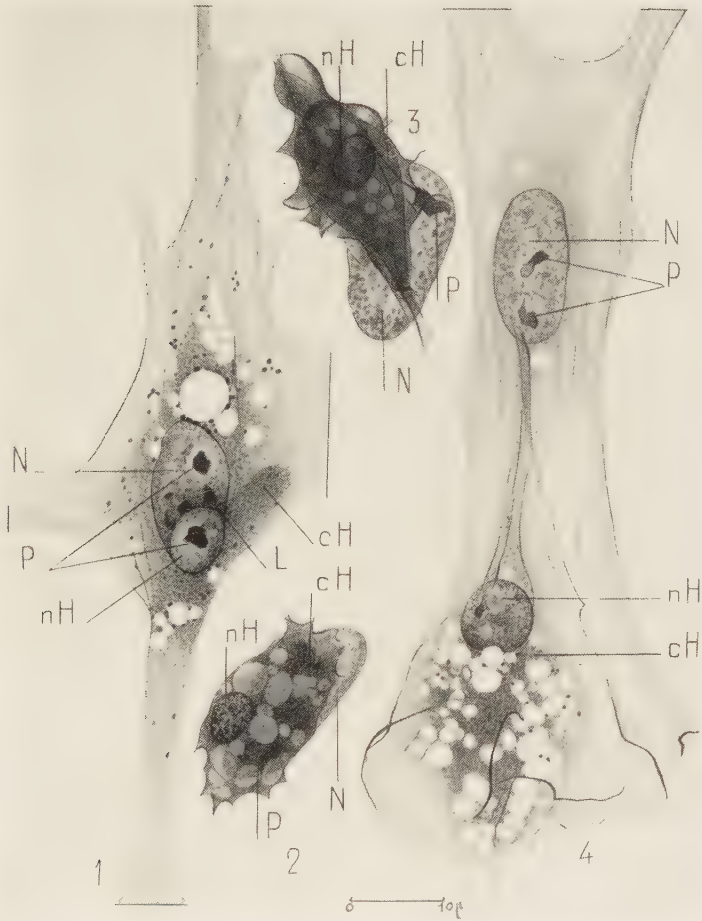


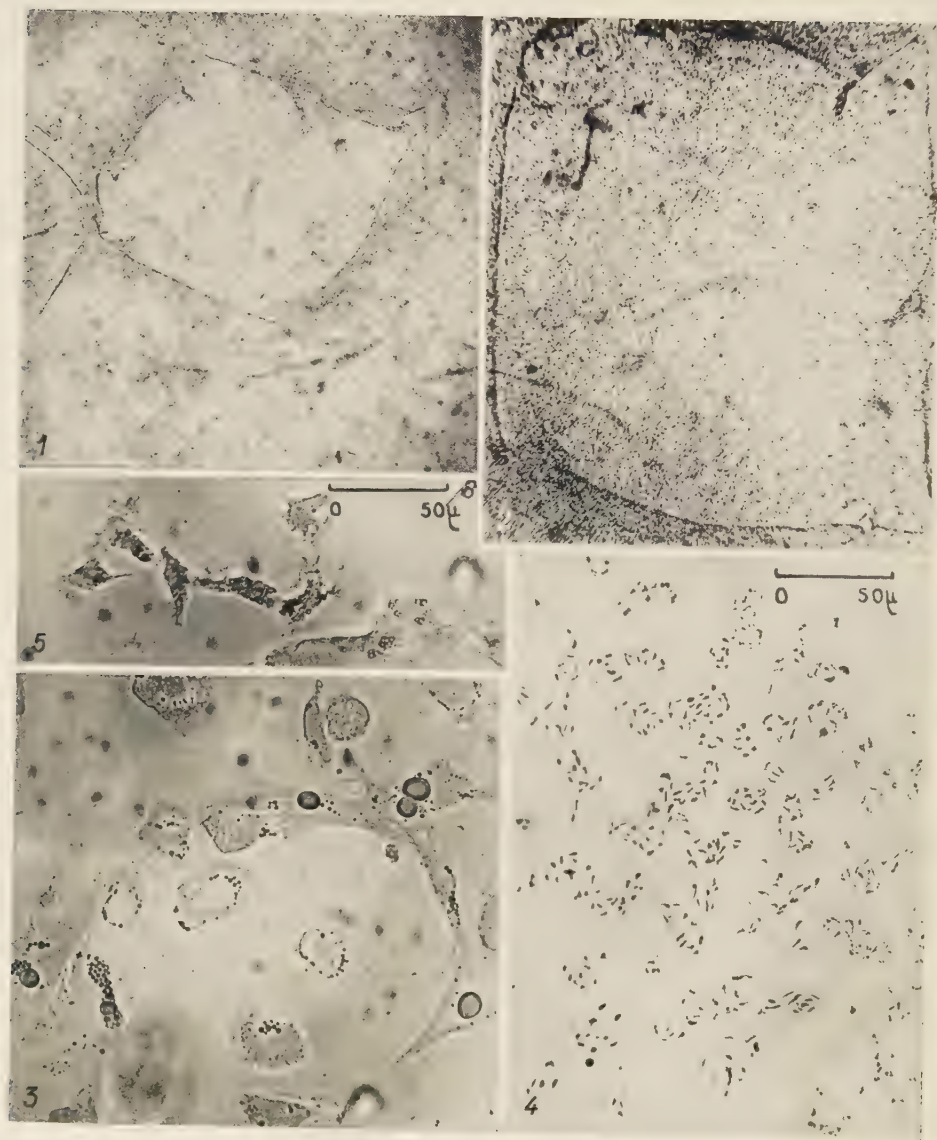








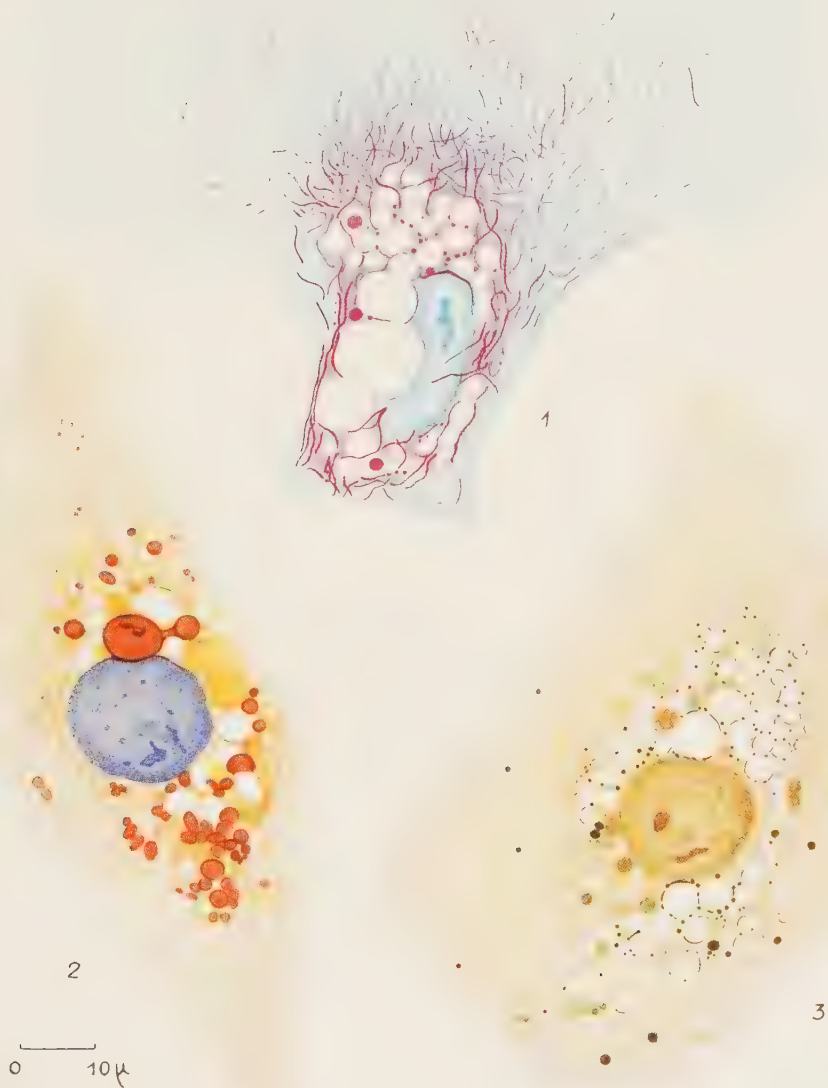






Coloration vitale des vacuoles et des enclaves des cellules vitellines.

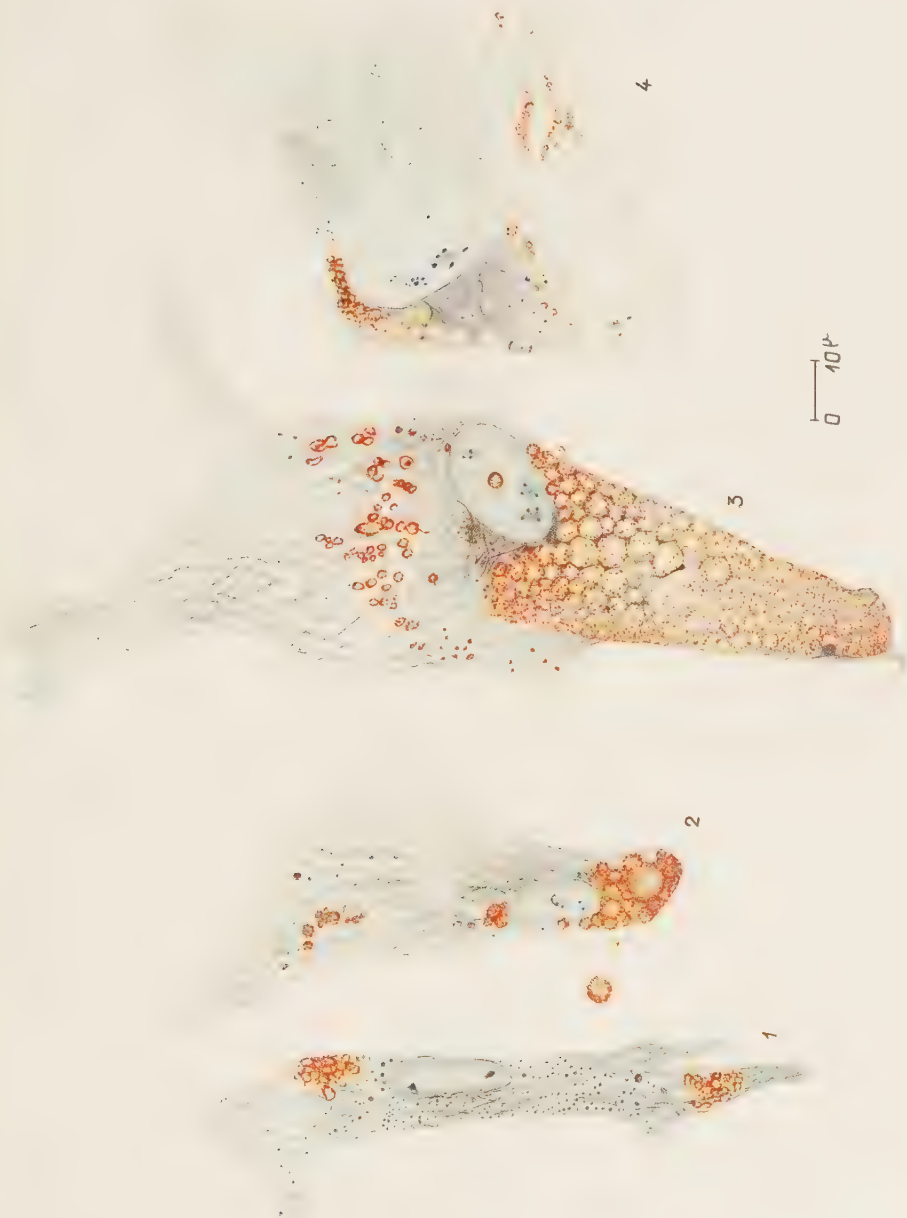
P. Wachi pinxit



Le chondriome et les enclaves en digestion des cellules vitellines.

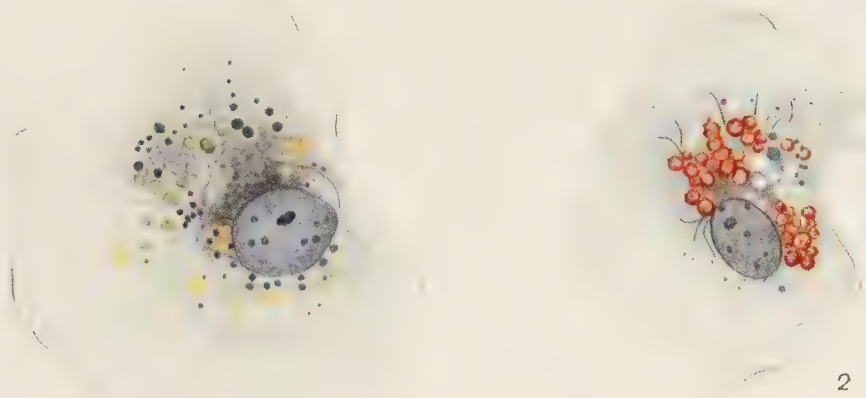


Les structures fibreuses de l'entoblaste vitellin.



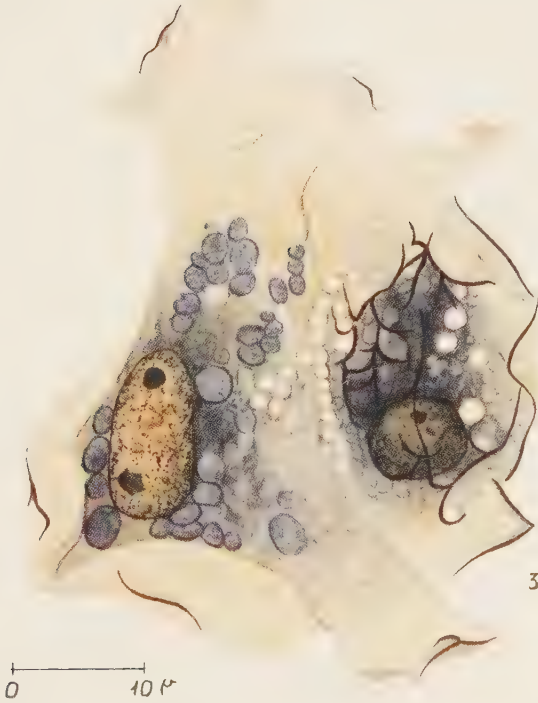
La sécrétion des cellules vitellines.

P. Wachi pinxit



1 0 10 μ

La sécrétion des macrophages vitellins.



0 10 μ

Un macrophage issu d'un fibrocyte du cœur.

DEUXIÈME THÈSE

Proposition donnée par la Faculté :

LES PROTÉINES-VIRUS.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 18 juin 1938.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. ROUSSY.

